

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

VYUŽITÍ TESTŮ OECD PRO STANOVENÍ EKOTOXICITY ODPADŮ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

LUDMILA ZÁLEŠÁKOVÁ

BRNO 2008



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ
FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

VYUŽITÍ TESTŮ OECD PRO STANOVENÍ EKOTOXICITY ODPADŮ

THE USAGE OF OECD TESTS FOR DETERMINATION OF WASTE ECOTOXICITY

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

LUDMILA ZÁLEŠÁKOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

Ing. KAREL BEDNAŘÍK, Ph.D.

BRNO 2008



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce

FCH-BAK0143/2006

Akademický rok: **2007/2008**

Ústav

Ústav chemie potravin a biotechnologií

Student(ka)

Zálešáková Ludmila

Studijní program

Chemie a technologie potravin (B2901)

Studijní obor

Potravinářská chemie (2901R021)

Vedoucí bakalářské práce

Ing. Karel Bednařík, Ph.D.

Konzultanti bakalářské práce

Název bakalářské práce:

Využití testů OECD pro stanovení ekotoxicity odpadů

Zadání bakalářské práce:

Teoretické zhodnocení veškerých s současné době používaných a OECD doporučovaných biotestů, jejich vzájemné srovnání z hlediska použitelnosti.

Termín odevzdání bakalářské práce: 31.7.2007

Bakalářská práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Ludmila Zálešáková
student(ka)

Ing. Karel Bednařík, Ph.D.
Vedoucí práce

Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.9.2006

doc. Ing. Jaromír Havlica, CSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Ve své bakalářské práci se zabývám testy ekotoxicity odpadů, které jsou doporučovány mezinárodní organizací OECD. Cílem práce je tyto testy charakterizovat a vzájemně je porovnat z hlediska jejich použití.

Práce představuje mezinárodní organizaci OECD, její vznik a vztah k České republice. Dále je zde diskutována problematika odpadů. Jsou zde definovány základní pojmy této oblasti, druhy odpadů a zdroje jejich vzniku. Největší pozornost je věnována ekotoxikologickým testům, které jsou charakterizovány podle možného použití, provedení a testovacího organismu.

ABSTRACT

In my bachelor thesis I concern myself with tests of waste ecotoxicity that are recommended by OECD. The main purpose of the thesis is to characterize these tests and compare them from the application aspect.

The thesis presents OECD, its establishment and relation to the Czech Republic. Waste problems are discussed here too. Fundamental terms in this field, sorts of waste and its origin are defined here. The main attention is focused on ecotoxicological tests that are characterized according to their application, implementation and testing organism.

KLÍČOVÁ SLOVA

odpady, organizace OECD, ekotoxická, biologické testy toxicity

KEYWORD

waste, organization OECD, ecotoxicity, biological toxicity test

ZÁLEŠÁKOVÁ, L. Využití testů OECD pro stanovení ekotoxicity odpadů. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2008. 58 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Karel Bednařík, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování: Děkuji Ing. Karlu Bednaříkovi, Ph.D. za veškerou pomoc při vytváření bakalářské práce.

OBSAH

1. ÚVOD	7
2. ORGANIZACE PRO EKONOMICKOU SPOLUPRÁCI A ROZVOJ (OECD).....	8
2.1 ČLENSKÉ ZEMĚ	9
2.2 ORGÁNY OECD.....	10
2.3 OECD A ČESKÁ REPUBLIKA.....	11
3. ODPADOVÉ HOSPODÁŘSTVÍ.....	12
3.1 ZÁKLADNÍ POJMY.....	12
3.2 VZNIK A ZDROJE ODPADŮ	13
3.3 DRUHY ODPADŮ	13
3.3.1 NEBEZPEČNÉ ODPADY	14
4. TESTY TOXICITY.....	15
4.1 TOXICITA A JEJÍ ROZDĚLENÍ	15
4.2 CHARAKTERISTIKA TESTŮ TOXICITY	15
4.3 TOXIKOLOGICKÉ INDEXY	16
4.4 EKOTOXIKOLOGICKÉ BIOTESTY	17
4.4.1 STANDARDNÍ TESTY EKOTOXICITY BĚŽNĚ POUŽÍVANÉ V ČR	19
4.4.2 ALTERNATIVNÍ TESTY EKOTOXICITY	20
5. STANOVENÍ EKOTOXICITY	21
5.1 POSTUP STANOVENÍ EKOTOXICITY	21
5.1.1 PRINCIP STANOVENÍ.....	21
5.1.2 ZÁKLADNÍ POJMY	22
5.1.3 METODIKA TESTŮ EKOTOXICITY	22
5.1.4 HODNOCENÍ ODPADŮ	25
6. TESTY OECD PRO STANOVENÍ EKOTOXICITY ODPADŮ.....	27
6.1 STANDARDNÍ TESTY OECD PRO STANOVENÍ EKOTOXICITY ODPADŮ	27
6.1.1 TEST INHIBICE RŮSTU NA ŘASE A SINICI OECD 201/2006	27
6.1.2 TEST AKUTNÍ TOXICITY NA PERLOOČKÁCH OECD 202/2004	29
6.1.3 TEST AKUTNÍ TOXICITY NA RYBÁCH OECD 203/1992.....	30
6.1.4 TESTY SEMICHRONICKÉ TOXICITY SE SEMENY OECD 208/2006	32
6.2 DALŠÍ TESTY OECD PRO STANOVENÍ EKOTOXICITY ODPADŮ	34
6.2.1 TESTY S VODNÝMI VÝLUHY ODPADŮ	34
6.2.2 KONTAKTNÍ TESTY	35
6.3 ALTERNATIVNÍ TESTY PRO STANOVENÍ EKOTOXICITY ODPADŮ	38
6.3.1 ALGALTOXKIT F TM	38
6.3.2 DAPHTOXKIT F TM VELKÝ A DAPHTOXKIT F TM PULEX	39
6.3.3 PROTOXKIT F TM	39
6.4 CHARAKTERISTIKA DALŠÍCH TESTŮ OECD	40
6.4.1 TEST AKUTNÍ ORÁLNÍ TOXICITY NA PTÁČÍCH OECD 205/1984	40
6.4.2 TEST CHRONICKÉ TOXICITY REPRODUKCE NA PTÁČÍCH OECD 206/1984	41
6.4.3 AKUTNÍ TEST ZPOMALENÍ RESPIRACE NA AKTIVNÍM KALU OECD 209/1984	41
6.4.4 EMBRYOLARVÁLNÍ TEST NA RYBÁCH OECD 210/1998	42

6.4.5 EMBRYONÁLNÍ TEST TOXICITY NA RYBÁCH OECD 212/1998	42
6.4.6 ORÁLNÍ TEST AKUTNÍ TOXICITY NA VČELE OECD 213/1998.....	43
6.4.7 KONTAKTNÍ TEST AKUTNÍ TOXICITY NA VČELÁCH OECD 214/1998	44
6.4.8 RŮSTOVÝ TEST NA RYBÁCH OECD 215/2000	44
6.4.9 DUSÍKOVÝ TRANSFORMAČNÍ TEST NA PŮDNÍCH MIKROORGANISMECH OECD 216/2000	44
6.4.10 UHLÍKOVÝ TRANSFORMAČNÍ TEST NA PŮDNÍCH MIKROORGANISMECH OECD 217/2000	45
6.4.11 SEDLINOVÝ TEST NA LARVÁCH PAKOMÁRA OECD 218/2004 A OECD 219/2000.....	45
6.4.12 RŮSTOVÝ INHIBIČNÍ TEST OKŘEHKU MENŠÍHO OECD 221/2006	46
6.4.13 TEST REPRODUKCE U ŽÍŽAL OECD 222/2004	47
7. SROVNÁNÍ TESTŮ OECD	48
8. ZÁVĚR.....	51
9. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	52
10. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	58

1. ÚVOD

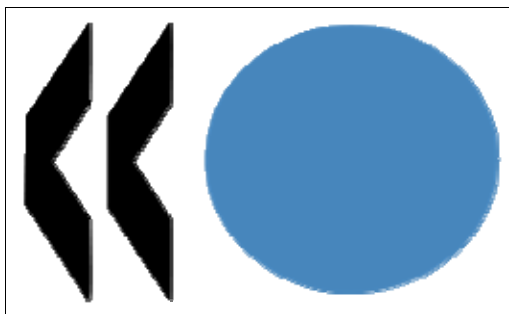
Předkládaná bakalářská práce se zabývá využitím testů mezinárodní organizace OECD pro stanovení ekotoxicity odpadů.

Stanovení ekotoxicity odpadů nabývá v současné době na stále větším významu. Protože se zvyšuje produkce odpadů a výroba chemikálií, roste zájem o studium vlivu těchto chemických sloučenin na životní prostředí. Testy ekotoxicity se používají pro hodnocení účinku velkého spektra látek ohrožujících životní prostředí. Tyto látky mohou brzdit životní pochody organismů nebo způsobit jejich smrt. Účinky těchto látek na živé systémy zkoumá ekotoxikologie. Je to mladá mezioborová vědní disciplína na pomezí chemie životního prostředí, toxikologie, ekologie a biologie. Pro hodnocení stupně znečištění je důležitá chemická a fyzikální analýza, která umožňuje s vysokou přesností stanovit ve vzorcích z životního prostředí velmi malá množství kontaminujících látek. Na základě přítomnosti a koncentrace jednotlivých sloučenin nelze určit jejich toxický vliv na různé formy života. Proto se pro stanovení ekotoxicity využívají biologické metody. K biologickým metodám patří biotesty. Je to proces, kdy je testovací organismus vystaven zkoumané látce za podmínek daného testu, a sledují se změny testovaného organismu. Mezi pozorované změny může patřit např. fyziologické funkce, pohyblivost, růst, reprodukce a další. Pro možnost porovnání výsledků testů toxicity prováděných v různých laboratořích je nutné, aby byly testy prováděny podle shodných metodik. Standardizace těchto metodik je prováděna na mezinárodní úrovni. Mezi organizace, které tyto standardizace provádějí, patří např. ISO (*International Organization for Standardization*) a OECD (*Organization for Economic Cooperation of Development*).

Cílem této bakalářské práce je teoretické hodnocení testů mezinárodní organizace OECD pro stanovení ekotoxicity odpadů a jejich srovnání vzhledem použitelnosti. V České republice chybí ucelené a přehledné ekotoxikologické monografie, proto jsem vycházela z jednotlivých článků v odborných časopisech, z norem, které vydává mezinárodní organizace OECD a Ministerstvo životního prostředí České republiky. Největší pozornost byla věnována biologickým testům, zvláště pak testům ekotoxikologickým a to jejich charakteristice, rozdělení a vyhodnocení. Jednotlivé testy byly rozděleny na testy, které jsou běžně používány pro stanovení ekotoxicity odpadů v České republice a testy, které jsou mezinárodní organizací OECD doporučovány. Testy jsou charakterizovány podle možného použití, provedení a testovacího organismu.

2. ORGANIZACE PRO EKONOMICKOU SPOLUPRÁCI A ROZVOJ (OECD)

Organizace pro ekonomickou spolupráci a rozvoj „*Organisation for Economic Co-operation and Development*“ je to mezinárodní vládní organizace se sídlem v Paříži.¹



Obrázek 1: Logo organizace.¹

Organizace vznikla 30.září 1961. Zakládací dokument byl podepsán 14. prosince 1960, transformací Organizace pro ekonomickou spolupráci (OEEC), která byla původně zřízená roku 1948 a měla obnovit hospodářství v celé Evropě po druhé světové válce.^{1, 2}

Organizace je fórem 30 ekonomicky nejrozvinutějších států na světě, které přijaly principy demokracie a tržní ekonomiky. Její působnost zasahuje do celé řady oblastí. K těmto oblastem patří ekonomika, finance, obchod, vzdělání, věda a technika, veřejná správa, zemědělství, životní prostředí a další.^{1, 2, 4}

Hlavní cíle organizace OECD jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1: Hlavní cíle OECD.²

Hlavní cíle OECD
Zvyšovat životní úroveň členských zemí, za předpokladů udržení finanční stability, a tím i rozvoj světové ekonomiky.
Koordinace politik za účelem dlouhodobého ekonomického rozvoje členských i nečlenských zemí.
Zdravý ekonomický růst členských i nečlenských zemí.
Rozvoj světového obchodu.
Zprostředkování nových investic.
Potlačení nezaměstnanosti.

Spolupráce mezi jednotlivými vládami pramení z informací a analýz poskytovaných sekretariátem v Paříži. Ten shromažďuje data, monitoruje trendy a analyzuje a předpovídá další ekonomický vývoj. Snaží se zachytit sociální změny nebo rozvoj v obchodu, ochraně životního prostředí, zemědělství, technologií a dalších oblastech. OECD je také známá jako jedna z nejlepších statistických agentur, protože publikuje průzkumy s velkým množstvím informací a širokým zaměřením.^{1, 4}

2.1 Členské země

Dnes má OECD 30 členských zemí, které vstoupily v roce 1961. Zakládající země jsou uvedeny v tabulce 2. Česká republika vstoupila do OECD 21. prosince 1995.^{3, 4}

Tabulka 2: Zakládající země.⁴

	Země		Země
	Belgie		Portugalsko
	Dánsko		Rakousko
	Francie		Řecko
	Irsko		Španělsko
	Island		USA
	Itálie		Velká Británie
	Kanada		SRN
	Lucembursko		Švédsko
	Nizozemí		Švýcarsko
	Norsko		Turecko

Státy, které vstoupily do OECD později, jsou seřazeny podle data vstupu v tabulce 3.

Tabulka 3: Další členské země.⁴

	Země		Země
	Japonsko		Česká republika
	Finsko		Jižní Korea
	Austrálie		Maďarsko
	Nový Zéland		Polsko
	Mexiko		Slovensko

OECD je svým rozsahem globální a členství je výběrové. Aby se některá země mohla stát členem, musí splnit náročné politické a legislativní podmínky. V současnosti se o dalším rozšíření OECD teprve jedná. Rozšiřuje se však spolupráce s nečlenskými zeměmi. Dnes zahrnuje 70 nečlenských zemí.^{3, 4}

Členské státy jsou vyznačeny modře na obrázku 2.



Obrázek 2: Členské státy.⁴

2.2 Orgány OECD

Hlavní orgány jsou zaznamenány v tabulce 4.

Tabulka 4: Orgány OECD.²

Orgány OECD
Rada OECD
Zasedání Rady OECD
Výbory
Sekretariát

Rada OECD

Rada OECD je nejvyšším orgánem organizace. Sestává se z velvyslanců všech 30 členských zemí a zástupce Evropské komise. Její zasedání řídí generální tajemník OECD. Rada na úrovni velvyslanců se schází 2x měsíčně, aby řešila operativní a strategické otázky řízení organizace. Rada přijímá a schvaluje všechny akty OECD. Předseda Rady na úrovni ministrů je jmenován Radou, společně se dvěma místopředsedy.^{2, 3}

Zasedání Rady OECD

Jednou ročně se koná zasedání Rady OECD na ministerské úrovni, kde ministři z členských zemí udávají dlouhodobý směr pro OECD.^{2, 3}

Výbory

Stěžejní část práce OECD se odehrává v odborných výborech. V OECD existují zhruba dvě desítky hlavních výborů, které spolu s různými skupinami a podskupinami vytváří síť asi dvou stovek pracovních orgánů OECD. Výbory a pracovní skupiny se scházejí zpravidla dvakrát ročně a zasedají v nich odborníci z členských zemí, kteří si vyměňují zkušenosti, koordinují své postupy, případně vytvářejí společná doporučení. Výbory si dále mohou vytvářet specializované pracovní skupiny (working party, working group, expert group, task force, apod.).^{2, 3}

Aktivity spojené s životním prostředím spadají především do působnosti Direktorátu životního prostředí, který je výkonným orgánem Výboru pro politiku životního prostředí. Odpovídá za usměrňování a koordinaci politik, životního prostředí členských států OECD a jeho specializovaných pracovních skupin.^{2, 3}

Sekretariát

Na podporu práce výborů působí sekretariát OECD se sídlem v Paříži. V čele sekretariátu stojí generální tajemník. Sekretariát má asi 2000 zaměstnanců z členských zemí, kteří v OECD zastupují nestranné zájmy mezinárodní organizace. Komunikaci mezi sekretariátem (ústředím OECD) a výbory (delegáty z ústředí) probíhá prostřednictvím Stálých misí jednotlivých členských zemí se sídlem v Paříži. Delegáti mají diplomatický status a účastní se práce jednotlivých orgánů.^{2, 3}

Přidružené organizace

Součástí OECD je i několik autonomních organizací se sídlem v Paříži přidružených k OECD. Jde o Mezinárodní energetickou agenturu (IEA), Agenturu pro atomovou energii (NEA), Evropskou konferenci ministrů dopravy (CEMT). Součástí OECD je také Rozvojové centrum (DC), na jehož činnosti se podílí i nečlenské rozvojové země.²

2.3 OECD a Česká republika.

Česká republika vstoupila do OECD 21. prosince 1995 jako její 26. člen. Tímto vstupem se Česká republika zavázala ke splnění prioritních úkolů. Prioritní úkoly v oblasti ochrany životního prostředí jsou uvedeny v tabulce 5.^{3, 5}

Tabulka 5: Prioritní úkoly v oblasti životního prostředí.

Prioritní úkoly	
1.	Ochrana přírody a krajiny biologické rozmanitosti.
2.	Udržitelné využívání přírodních zdrojů (včetně vody), materiálové toky a nakládání s odpady.
3.	Životní prostředí a kvalita života.
4.	Ochrana klimatického systému země a zamezení dálkového přenosu znečištění.

Česká republika musí ke splnění těchto úkolů zvýšit úsilí v oblasti budování environmentální infrastruktury (např. v oblasti odpadů a čištění odpadních vod). Musí více začleňovat problematiku životního prostředí do rozhodování v ekonomické a environmentální oblasti a posílit mezinárodní spolupráci v otázkách životního prostředí.⁵

3. ODPADOVÉ HOSPODÁŘSTVÍ

V současné době platí v České republice zákon o odpadech č. 106/2005 Sb. Informuje o aktuální právní úpravě nakládání s odpady, včetně úpravy nakládání s elektroodpadem a autovraky. Dále úpravy zpětného odběru výrobků a přeshraniční přepravy odpadů po vstupu České republiky do EU.^{6, 7}

3.1 Základní pojmy

Přesné definice základních pojmů v odpadovém hospodářství obsahuje zákon o odpadech č. 106/2005 Sb.

Odpad - je každá movitá věc, které se osoba zbavuje nebo má úmysl nebo povinnost se jí zbavit a přísluší do některé ze skupin odpadů uvedených zákoně.⁷

Komunální odpad - veškerý odpad vznikající na území obce při činnosti fyzických osob, nebo fyzických osob oprávněných k podnikání.⁷

Odpadové hospodářství – činnost zaměřená na předcházení vzniku odpadů, na nakládání s odpady a na následnou péči o místo, kde jsou odpady trvale uloženy. Kontrola těchto činností.⁷

Nakládání s odpady – jejich shromažďování, soustředování, sběr, výkup, třídění, přeprava a doprava, skladování, úprava, využívání a odstraňování.⁷

Shromažďování odpadů – krátkodobé soustředování odpadů do shromažďovacích prostředků v místě jejich vzniku před dalším nakládáním s odpady.⁷

Skladování odpadů – přechodné umístění odpadů, které byly soustředěny (shromážděny, sesbírány, vykoupěny) do zařízení k tomu určeného a jejich ponechání v něm.⁷

Sběr odpadů – soustředování odpadů právnickou osobou nebo fyzickou osobou oprávněnou k podnikání od jiných subjektů za účelem jejich předání k dalšímu využití nebo odstranění.⁷

Výkup odpadů – sběr odpadů v případě, kdy odpady jsou právnickou osobou nebo fyzickou osobou oprávněnou k podnikání kupovány za sjednanou cenu.⁷

Úprava odpadů – každá činnost, která vede ke změně chemických, biologických nebo fyzikálních vlastností odpadů (včetně jejich třídění) za účelem umožnění nebo usnadnění jejich dopravy, využití, odstraňování nebo za účelem snížení jejich objemu, případně snížení jejich nebezpečných vlastností.⁷

Původce odpadu – právnická osoba, při jejíž činnosti vznikají odpady nebo fyzická osoba oprávněná k podnikání, při jejíž podnikatelské činnosti vznikají odpady. Pro komunální odpady vznikající na území obce, které mají původ v činnosti fyzických osob, než se nevztahují povinnosti původce, se za původce odpadů považuje obec. Obec se stává původcem komunálních odpadů v okamžiku, kdy fyzická osoba odpady odloží na místě k tomu určeném; obec se současně stane vlastníkem těchto odpadů.⁷

Oprávněná osoba – každá osoba, která je oprávněna k nakládání s odpady podle tohoto zákona nebo podle zvláštních právních předpisů.⁷

3.2 Vznik a zdroje odpadů

Veškerá výrobní i nevýrobní činnost společnosti je doprovázena vznikem odpadů. Jejich využívání nebo odstraňování je prvořadý úkol jak z hlediska ochrany životního prostředí, tak i z hlediska ekonomického.^{8, 14} Všechny druhy odpadů vznikají ve společenské sféře (služby, obchod, domácnosti, veřejné objekty) nebo ve sféře výrobní (průmyslové, zemědělské, stavební).^{8,9}

Odpad ze společenské sféry se označuje jako komunální odpad. Odstraňuje se skládkováním. Část lze využít jako druhotné suroviny (papír, sklo, textil) a může obsahovat malé množství nebezpečných látek.^{9, 10} Výrobní odpady vznikají ve všech průmyslových odvětvích. Chemický průmysl je jedním z hlavních zdrojů nebezpečných odpadů. Nebezpečné odpady vznikají zejména při výrobě anorganických a organických chemikálií, zpracování ropy a dehtů, při výrobě barev a nátěrů, galvanickém pokovování kovů a jejich konečné úpravě. Nejvíce se zužitkuje kovový odpad a odpadní chemikálie.^{9, 14}

3.3 Druhy odpadů

Oficiální členění je pouze na ty druhy, které jsou uvedeny v Katalogu odpadů (vyhláška MŽP 381/2001 Sb., příloha 1). Struktura i původ odpadů je velmi pestrý. Používá se celá řada jiných členění podle účelu, ke kterému slouží. Jako kritérium pro rozdělení může sloužit např. původ, fyzikální vlastnosti (kapalné, tuhé, směsné), vznik, hospodářské obory činnosti (výrobní, spotřební – komunální), vliv na prostředí a člověka (nebezpečné a ostatní), možnosti využití (využitelné a nevyužitelné) a apod. Další možné členění odpadů je shrnuto v tabulkách 6 a 7.^{9, 10, 11}

Tabulka 6: Rozdělení odpadů podle stupně zatížení životního prostředí.^{9, 10}

Stupeň zátěže životního prostředí
Mírně zátěžová odvětví (zpracování dřeva, polygrafie aj.)
Středně zátěžová odvětví (textilní, kožedělný, sklářský, potravinářský průmysl apod.)
Silně zátěžová odvětví (těžební, energetický, chemický, papírenský, metalurgický, strojírenský průmysl, výroba paliv)

Tabulka 7: Rozdělení odpadů podle odvětví.^{8, 10}

Odvětví	
Anorganické a organické výroby	Textilní průmysl
Zpracování polymerů a pryží	Fotografický průmysl
Těžba, doprava, zpracování a využití ropy	Stavební činnosti
Těžba, úprava a zpracování nerostů	Strojírenství
Kožedělný průmysl a zpracování usní	Energetika
Mechanické a chemické zpracování dřeva	Potravinářský průmysl
Sklářské a keramické provozy	Zemědělství
Zdravotní a veterinární péče	Elektrotechnický průmysl

3.3.1 Nebezpečné odpady

Odpady můžeme dělit podle vlivu na člověka na nebezpečné a ostatní. Nebezpečný odpad je odpad, který má jednu nebo více nebezpečných vlastností. Vlastnosti způsobující nebezpečnost odpadu jsou uvedeny v příloze č.2 zákona o odpadech č.106/2005 Sb.. Tyto odpady jsou produkovány zejména průmyslem. Nebezpečné odpady nejsou většinou jednoduché substance, ale směsi různých látek, jejichž podstata a složení závisí na technologii a změnách podmínek výrobního procesu. Vlastnosti, které patří mezi nebezpečné, jsou uvedeny v tabulce 8.^{6, 7}

Tabulka 8: Seznam nebezpečných vlastností odpadů.^{6, 7}

Kód	Nebezpečná vlastnost odpadu
H1	Výbušnost
H2	Oxidační schopnost
H3-A	Vysoká hořlavost
H3-B	Hořlavost
H4	Dráždivost
H5	Škodlivost zdraví
H6	Toxicita
H7	Karcinogenita
H8	Žíravost
H9	Infekčnost
H10	Teratogenita
H11	Mutagenita
H12	Schopnost uvolňovat vysoce toxické nebo toxické plyny ve styku s vodou, vzduchem nebo kyselinami
H13	Schopnost uvolňovat nebezpečné látky do životního prostředí při nebo po odstraňování
H14	Ekotoxická

4. TESTY TOXICITY

4.1 Toxicita a její rozdělení

Toxicita bývá definována jako jedovatý účinek znečišťující látky (polutantu), který potlačuje nebo zcela ničí život v ekosystémech. Mechanismus působení toxických látek je velmi mnohotvárný a může spočívat v inhibici enzymů, katalyzujících biochemické reakce, ve změně povrchového napětí a permeability membrán, v denaturaci bílkovin, ve změnách vazebné afinity apod. V extrémním případě mohou být organismy usmrceny. Nízké koncentrace jedů mohou vykazovat subletální toxické účinky. Některé jedy se akumulují v tkáních organismů během jejich života a vykazují toxické vlivy až po prodloužené době expozice ke koncentracím, které jsou chemicky stěží detekovatelné.^{20, 21, 22}

Rozlišujeme dvě základní kategorie toxických vlivů, jejich charakteristika je uvedena v tabulce 9.^{20, 21, 22}

Tabulka 9: Kategorie toxických vlivů.

Kategorie toxického vlivu	Charakteristika vlivu
Akutní toxicita (velká dávka jedu krátkého trvání)	Letální, tj. jedovatý účinek toxické látky se projevuje okamžitě. Je ovlivněn přímo vystavovaný organismus.
Chronická toxicita (nízká dávka po dlouhou dobu)	Letální nebo subletální, tj. účinek se projevuje až po několika měsících či rocích působení a kde často dochází k hromadění (kumulaci) jedovatých látek v tělech organismů. Její projevy se zjišťují na dalších vývojových generacích (problémy s plodností, degenerace na potomcích).

4.2 Charakteristika testů toxicity

Testy toxicity jsou základním nástrojem ekotoxikologické práce. Slouží k zjištění či odhadu možného toxického vlivu testovaných látek nebo směsných vzorků na živé organismy a na životní prostředí. Test toxicity je experimentální metoda, pomocí které hledáme odpověď organismu na expozici toxickou látkou. Z praktického hlediska se dělí do dvou hlavních skupin, které jsou zobrazeny v tabulce 10.^{20, 21, 22}

Tabulka 10: Dělení testů toxicity.

Charakteristika skupiny
1. Testy toxicity cílené na odhad možných toxických účinků na člověka.
2. Testy toxicity, od kterých očekáváme informace na možné nepříznivé účinky látek a jejich směsi na životní prostředí.

Stanovení akutní a semichronické toxicity neznámých látek, např. výluhů z průmyslových odpadů nebo ze skládek, odpadních vod určených pro zavlažování, slouží k určení toxického vlivu látek na vodní organismy a semena rostlin. Zatímco testy chronické toxicity se používají k určení negativních účinků látek při jejich dlouhodobém působení na organismy, slouží akutní testy toxicity k určení okamžitého účinku látek, který vyvolává úhyn organismů, v mírnějším případě jejich stresové chování. Výsledkem ekotoxikologické zkoušky je hodnota efektivní koncentrace testované látky EC_{50} , při které dochází k úhynu nebo imobilizaci 50 % organismů. Hodnota EC_{50} bývá udávána v jednotkách mg/l nebo ml/l. Podle této hodnoty lze testovanou látku zařadit do tříd toxicity a odhadnout míru jejího škodlivého působení na vodní organismy.^{20, 21, 22}

4.3 Toxikologické indexy

Základním toxikologickým indexem je dávka jedu, který vyvolá sledovaný účinek. Zpravidla se jedná o medián střední smrtné dávky LD_{50} vztažené na hmotnost exponovaného testovacího organismu. Toxikologie se tedy zabývá především účinky látek, přítomných již v tělech živých organismů. Jelikož ekotoxikologie zkoumá vazby mezi toxickými látkami obsaženými v jednotlivých složkách prostředí (ve vodě, půdě, vzduchu) a jejich účinky na organismy, operuje nikoliv s dávkami jedů v tělech organismů, ale s jejich koncentracemi v okolním prostředí. Jinak řečeno, zatímco toxikologický experiment začíná vpravením toxické látky do testovacího organismu, začíná ekotoxikologický experiment umístěním testovacího organismu do prostředí obsahujícího známou koncentraci toxické látky. Index odpovídající v toxikologii běžnému indexu letální dávky LD_{50} je v ekotoxikologii letální koncentrace LC_{50} .^{20, 21, 22}

V testech toxicity nemusí být sledována jako odezva organismu pouze jeho smrt. V ekotoxikologii se často sleduje inhibice růstu, imobilizace, změny chování, změny rychlosti reakcí, změny v rychlosti rozmnožování či jiné účinky neboli efekty. Setkáme se proto s indexem efektivní koncentrace EC_{50} , jenž je koncentrací testované toxické látky v prostředí (voda, půda či jiné médium) vyvolávající u 50 % testovací populace organismů sledovaný účinek. Čím je hodnota EC_{50} nižší, tím hodnocený vzorek způsobuje nežádoucí účinek při nižší koncentraci a je tudíž toxičtější. Pro charakterizaci účinků látek na životní prostředí se používají ekotoxikologické indexy odvozené ze závislosti účinku na koncentraci testované látky v prostředí. Tato závislost je znázorňována křivkou koncentrace, která má většinou sigmoidální průběh uzavřený mezi hranice 0% a 100% účinku.^{20, 21, 22}

Vedle indexu EC_{50} udávající koncentraci látky v prostředí, která vyvolá účinek u 50% pokusných organismů, se v ekotoxikologii používají indexy EC_{20} , EC_{10} , EC_{05} , jež popisují účinky zasahující nižší podíl testovaných objektů, tedy účinek při nižších koncentracích. Tyto indexy mají ve srovnání s EC_{50} obvykle širší intervaly spolehlivosti na úrovni 95 %. Hodnota EC_{50} často leží v inflexním bodě křivky a tudíž má interval spolehlivosti nejužší. Jelikož se ovšem v životním prostředí setkáváme s koncentracemi toxických látek nižšími než je EC_{50} , jsou tyto další indexy vhodnější pro odhad ekologických rizik. Pouhé použití indexu EC_{50} k vzájemnému porovnávání toxicity látek může totiž vést k chybným závěrům. Vedle samotné hodnoty EC_{50} totiž, z pohledu ekotoxikologie, hraje významnější roli fakt, jak se vyvolaný účinek mění se změnou koncentrace látky.^{20, 21, 22}

Pro možnost porovnání výsledků testů toxicity prováděných v různých laboratořích je třeba, aby tyto laboratoře postupovaly podle shodných metodik. Proto jsou jednotlivé

metodiky testů toxicity standardizovány na mezinárodní úrovni. Standardizaci provádí mezinárodní organizace ISO (*International Organization for Standardization*) a OECD (*Organization for Economic Cooperation of Development*).^{20, 21, 22}

4.4 Ekotoxikologické biotesty

Pro hodnocení ekotoxikologických vlastností látek jsou upřednostňovány biologické testy (biotesty). Slouží k hodnocení nepříznivého vlivu škodlivin na biotickou složku životního prostředí. Biotesty jsou definované jako proces, při němž je testovací systém (tkáň, organismus, populace, atd.) exponován v přesně definovaných podmínkách různými koncentracemi zkoumané chemické látky nebo směsného či přírodního vzorku. Tvoří jako vhodný doplněk k používaným fyzikálně – chemickým metodám.^{20, 21, 22}

Metody jsou navrhovány tak, aby indikátorovými organismy byly typické druhy zastupující nejvýznamnější složky ekosystémů. Reakce bioindikátoru na přítomnost toxikantu je např. určitá změna fyziologické funkce, změnou pohyblivosti, růstu nebo reprodukce. V krajním případě může být testovací organismus toxikantem usmrcen. V přírodě působí faktory komplexně (hodnota pH měřeného vzorku, zákal a zbarvení měřeného vzorku, koncentrace solí v měřených vzorcích, rozpustnost kontaminantů v měřených vzorcích, atd.) volí se převážně preferenčně metody laboratorní, které využívají jediný druh organismu, který je vystaven změnám jediného faktoru za časový interval v kontrolovaných podmínkách. Jejich hlavním cílem je stanovit hraniční koncentraci, ve které je ještě možný neomezený život testovaných organismů.^{20, 21, 22}

Existuje velké množství biologických testů, které mohou být klasifikovány různým způsobem.^{20, 21, 22}

Nejčastější rozdělení je uvedeno v tabulkách 11 až 15.

Tabulka 11: Rozdělení testů podle expozice.^{18, 21}

Akutní – slouží k určení okamžitého účinku látek, který vyvolává úhyn organismů, v mírnějším případě jejich stresové chování.
Semiakutní – organismus je vystaven látce o nízké koncentraci po krátký čas, nejsou patrné žádné akutní příznaky
Chronické - používají se k určení negativních účinků látek při jejich dlouhodobém působení na organismy.

Tabulka 12: Dělení testů podle testovacího uspořádání.^{18, 21}

Statické - vodný výluh se během zkoušky neobnovuje
Semistatické - vodný výluh se obnovuje po 24 hodinách
Průtočný – průtok stále nového výluhu

Tabulka 13: Kategorizace podle úrovně testovacího organismu.^{18, 21}

Producent - zástupci rostlinné říše
Konzumenti - zástupci živočišné říše
Reducenti - například bakterie

Tabulka 14: Podle typu testované matrice.^{18, 21}

Slaná i sladká voda
Půda
Vzduch
Sedimenty
Odpady

Tabulka 15: Podle způsobu vyhodnocování testu.^{18, 21}

Letální efekty – mortalita, imobilizace
Subletální – chování organismů např. směr a rychlost pohybu
Reprodukční aktivita
Malformace a teratogenita

Testy toxicity (biotesty) se mohou provádět na třech úrovních. Jejich charakteristika je popsána v tabulce 16.

Tabulka 16: Typ a charakteristika úrovní.^{18,21}

Typ úrovně	Charakteristika
na úrovni buněk, tkání	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Slouží pro teoretické objasnění toxického účinku. ▪ Jejich výhodou je vysoká citlivost, reprodukovatelnost, nízké časové nároky. ▪ Nevýhodou je skutečnost, že systémy nemohou suplovat enzymaticko-imunitní systém živého organismu.
na úrovni organismů	<ul style="list-style-type: none"> ▪ V současnosti jsou nejvíce používány. ▪ Nevýhodou jsou potíže s reprodukovatelností. ▪ Využívají se při hodnocení akutní, případně chronické toxicity látek. ▪ Výběr organismů k testům toxicity je prováděn tak, aby byly postiženy jednotlivé trofické úrovně ve vodním prostředí (baktérie, řasy, planktonní organismy a ryby).
na úrovni společenstev (biocenózy)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Výhodou těchto testů je, že se toxický účinek sleduje v samotné přírodě, a nebo na modelu, který je jí blízký. ▪ Nevýhodou je, že změny ve složení biocenózy nemusí být vždy vyvolány přímým toxickým účinkem na určitý druh,

	<p>ale mohou být výsledkem narušení potravního řetězce apod.</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Reprodukovatelnost je omezená. ▪ Využívají se především při sledování vlivu látek aplikovaných do vodního prostředí z důvodů preventivních či terapeutických (farmaka, dezinfekční prostředky apod.). ▪ Je sledován vliv těchto látek a přípravků na hydrochemické a hydrobiologické složky vodního prostředí a je sledováno ubývání reziduí těchto látek v různých složkách vodního ekosystému. ▪ Druhou formou testů je sledování vlivu látek, přípravků, odpadů a odpadních vod havarijně nebo dlouhodobě znečišťujících lokality vodního prostředí.
--	---

Pro zvýšení objektivity se často pro testování používá nejen jeden druh, ale soubor několika biologických druhů různé složitosti a trofické úrovně.^{18, 21}

V České republice se používá soubor čtyř biotestů pro hodnocení nebezpečných vlastností odpadů. Tyto biotesty se používají ke stanovení ekotoxicity jako jedné z nebezpečných vlastností odpadů. Odpady jejichž vodný výluh negativně ovlivní alespoň jeden testovací druh organismů, přičemž doba kontaktu s bioindikátorem je přesně stanovena. K bioindikátorům patří ryby, řasy, dafnie a semena hořčice bílé.^{18, 21}

Podstatou biotestů je pozorování účinků vzorku (například odpadu, nebo jeho výluhu) na vybrané živé organismy za standardních podmínek. Při nakládání s odpady se v praxi často setkáváme se situací, kdy není přesně známo složení daného odpadu. Jsou k dispozici jen hrubé informace o tom, co by mohl odpad obsahovat a je tedy velmi těžké spolehlivě rozhodnout o jeho toxicitě a způsobu jeho likvidace. Biotesty umožňují poměrně rychlé a hlavně komplexní zhodnocení nebezpečnosti odpadu. Ačkoliv moderní analytické postupy mají dříve netušené možnosti, není ani teoreticky možné natož v praxi proveditelné stanovit všechny přítomné látky a i kdyby to možné bylo, nelze na základě této znalosti komplexně odhadnout nebezpečnost jejich směsi pro živé organismy a životní prostředí. Biotesty takovou informaci poskytují a v tom spočívá jejich přínos.^{18, 21}

4.4.1 Standardní testy ekotoxicity běžně používané v ČR

Běžně se pro testování ekotoxicity používají ryby, bezobratlí, řasy a semena rostlin. V České republice jsou nejčastěji prováděny následující testy, které jsou identické s ISO a OECD normami. Jsou to tyto testy:

Akutní test toxicity na rybách (OECD 203/1992, OECD 204/1984, ISO 7346 - 1:1996)

Princip testu tkví v 48 - 96 hod. expozici ryb v testovaných vzorcích vody. Po stanovené době se provede odečet mortality. OECD doporučuje druhy: *Brachydanio rerio*, *Leponis macrochirus*, *Salmo gairdneri*, *Cyprinus carpio* a řadu dalších.¹²

Imobilizační případně reprodukční test na perloočkách (OECD 202/1984, ISO 6341:1996)

Používá se drobný korýš *Daphnia magna*, který je přírodním komponentem planktonu našich vod. U testu se nesleduje mortalita (v důsledku obtížného rozeznání úhynu) ale

imobilita, což je jakýsi stav strnulosti či neschopnosti pohybovat se ve svém vodním prostředí. Používají se 24 hod. staré organismy v počtu dvaceti pro každou koncentraci, srovnává se s kontrolní skupinou, vyhodnocuje se po 24 resp. 48 hodinách. Jako referenční chemikálie slouží $K_2Cr_2O_7$ která má IC_{50} 24hod = 0,9 - 2 mg/l.¹²

Růstově inhibiční test na řasách (OECD 201/1984)

Test je založen na měření rychlosti růstu kultury použité řasy po 72 - 96 hodinách expozice testovaném vzorku vody. Měří se buď automatickým počítačím strojem nebo spektrofotometricky. Snížení růstové rychlosti při porovnání s kontrolou se vyjadřuje jako inhibice. Test je jednoduchý, operativní a dostatečně citlivý.¹²

Testy na vyšších cévnatých rostlinách – test klíčivosti a růstu kořenů hořčice (OECD 208/1984)

Tyto testy mají zatím určité nedostatky především v jednostrannosti provedení testu, výběru testovacího organismu, vyhodnocení i interpretaci výsledků. Pro testy toxicity se používá především semena hořčice seté (*Sinapsis alba*), řeřichy seté (*Lepidium sativum*), ředkvičky seté (*Raphanus sativa*), salátu hlávkového (*Lactuca sativa*) a další. Vyhodnocení probíhá obvykle (např. 72 hod. test u hořčice) měřením délky kořene (je však možno měřit i biomasu nadzemní části případně zjišťovat aktivitu řady enzymů (dehydrogenáz, fosfatáz, oxidáz, peroxidáz).¹²

4.4.2 Alternativní testy ekotoxicity

Alternativní testy se používají vždy v souborech (bateriích), jejichž sdružené jednotlivé složky zvyšují výpovědní hodnotu celé metodiky. Biotesty informují o tom, zda je testovaný materiál toxický pro příslušný organismus za stanovených známých podmínek, ale nikdy nedokáží stanovit, co pozorovanou toxicitu vlastně způsobuje. Do baterie jsou individuální testy vybírány tak, aby byla schopna detekovat co nejvíce skupin toxikantů s vysokou spolehlivostí a zároveň co nejlépe odpovídala druhovému zastoupení na sledovaném ekosystému.¹²

5. STANOVENÍ EKOTOXICITY

Ekotoxicita je nebezpečná vlastnost odpadů. Mají ji odpady, které vykazují nebo mohou představovat akutní či pozdní nebezpečí v důsledku nepříznivého zatížení životního prostředí biologickou akumulací nebo toxickými účinky na biotické systémy. Odpad je ve vztahu k člověku odpadem nebezpečným z hlediska akutní toxicity, jestliže v důsledku vstřebání velmi malé dávky účinné látky (škodliviny) nebo účinných látek obsažených v odpadu, bez ohledu na cestu vstupu vstřebání do organismu (po požití, vdechnutí nebo proniknutí kůží), může vzniknout smrt nebo těžké, zpravidla nezvratné poškození zdraví s nebezpečím smrti.³⁰

Ekotoxicita je stanovována na základně souboru výsledků testování vodných výluhů nebo kapalných vzorků na vodních organismech. Druhy testovacího organismu jsou uvedeny v tabulce 17.³⁰

Tabulka 17: Testovací organismy.

	Druh
Řasy	<i>Desmodesmus</i> (dříve <i>Scenedesmus</i>) <i>suspiciatus</i> nebo <i>quadricauda</i>)
Perloočky	<i>Daphnia magna</i>
Ryby	<i>Poecilia reticulata</i>
Suchozemské rostliny (semena hořčice bílé)	<i>Sinapsis alba</i>

5.1 Postup stanovení ekotoxicity

Pro hodnocení ekotoxicity, která patří mezi nebezpečné vlastnosti, se kapalný odpad, pokud jeho základní složkou je voda, považuje za výluh připravený k ekotoxikologickému testování. Při hodnocení kapalného odpadu musí být využívána kritéria stanovená pro odpady (nikoliv pro odpadní vody). V případě, že se nebezpečná vlastnost ekotoxicita posuzuje u kalu, který uvolňuje kapalnou fázi, zkouší se a hodnotí pomocí postupu stanoveným pro hodnocení nebezpečných vlastností kapalná i pevná fáze samostatně. Pro vyloučení nebezpečné vlastnosti u tohoto odpadu je nutné vyloučit nebezpečnou vlastnost u kapalně i pevně fáze.³⁰

5.1.1 Princip stanovení

Ekotoxicita se stanovuje pomocí testů akutní toxicity vodného výluhu (testovaného roztoku). Testy se provádějí na zástupcích ryb, zooplanktonu, fytoplanktonu a vyšších rostlin. Testované organismy reprezentují důležité články ekosystémů s možnou rozdílnou citlivostí k různým látkám obsaženým v odpadu a uvolněným do vodného výluhu odpadu. Pro stanovení ekotoxicity jsou rozhodující výsledky testu nejcitlivěji reagujícího organismu.³⁰

5.1.2 Základní pojmy

Základní pojmy použité v metodickém pokynu vydané Ministerstvem životního prostředí pro stanovení ekotoxicity odpadů.³⁰ K základním pojmům patří:

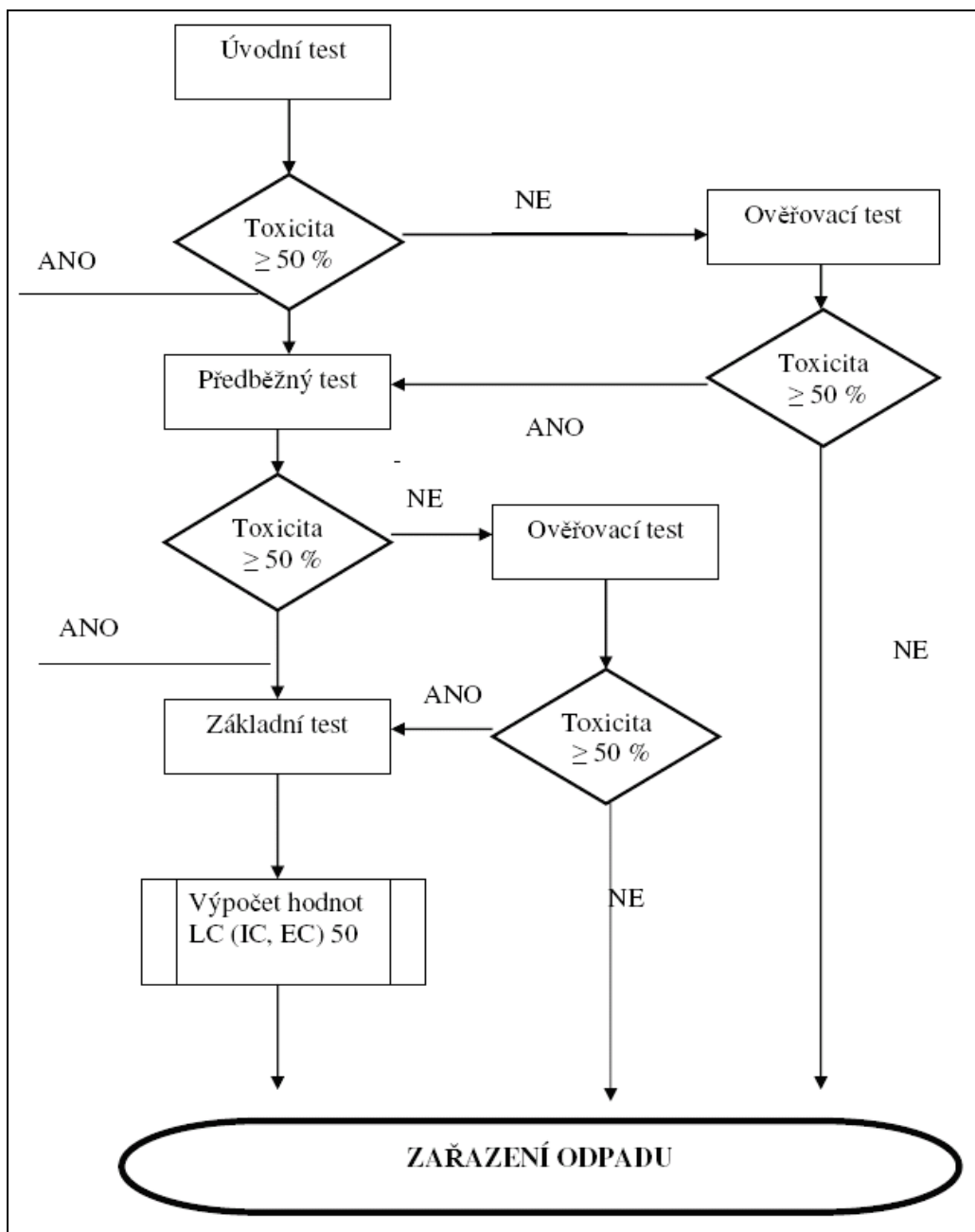
Ekotoxicita - vlastnost odpadu, představující akutní či pozdní nebezpečí pro jednu nebo více složek životního prostředí. Jde o ukazatel sloužící k zařazení odpadu do třídy vyluhovatelnosti podle vyhlášky č. 383/2001 Sb. a k hodnocení nebezpečné vlastnosti odpadu ekotoxicity ve smyslu vyhlášky č. 376/2001 Sb.³⁰

Vodný výluh odpadu – roztok, který je připraven ze vzorku odpadu podle stanoveného postupu vyluhování odpadů ve vodě; roztok získaný postupem podle metodického pokynu k hodnocení vyluhovatelnosti odpadů nebo kapalný odpad na bázi vody použitý ke stanovení ekotoxicity odpadu.³⁰

Výluhové třídy – třídy vyluhovatelnosti odpadů vodou, tj. množiny limitních hodnot ukazatelů vybraných chemických látek (škodlivin) uvolněných do prvního vodného výluhu. Limitní hodnoty představují nejvyšší přípustné hodnoty koncentrací těchto látek pro jednotlivé třídy vyluhovatelnosti.³⁰

5.1.3 Metodika testů ekotoxicity

Testy ekotoxicity vodného výluhu (testovaného roztoku) se provádějí na všech testovacích organismech postupem, jak je znázorněn na následujícím obrázku 3.³⁰



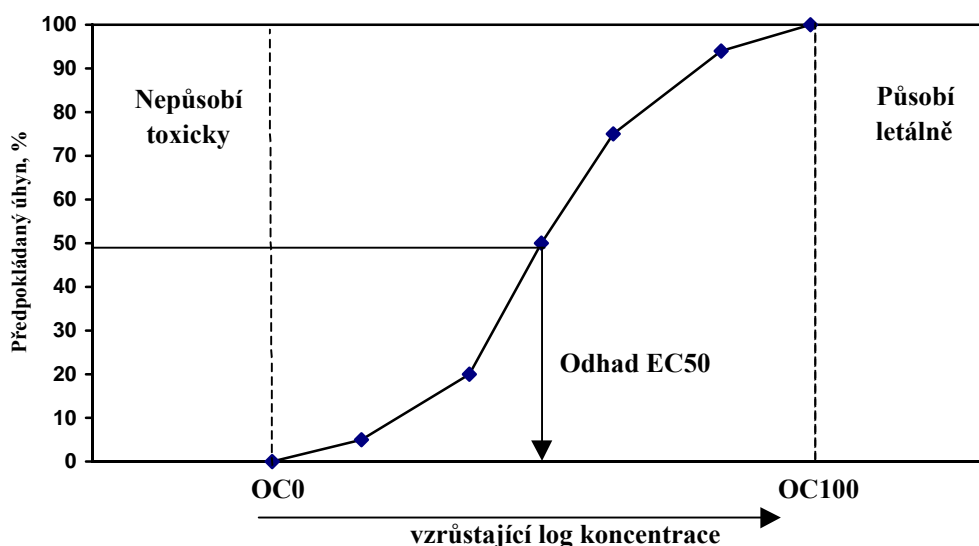
Obrázek 3: Postupový diagram testů k hodnocení ekotoxicity.³⁰

Testy ekotoxicity se zahajují úvodním testem. Úvodnímu testu je vystaven testovaný roztok připravený z neředěného vodného výluhu odpadu. Do testu se nasazují organismy v počtech, odpovídajících požadavkům pro předběžné testy daným metodikami pro jednotlivé testovací organismy. Ověřovací testy se provádějí s nejméně trojnásobným množstvím organismů proti počtům organismů požadovaným při základních testech. Projeví-li se v průběhu úvodního testu toxický účinek pro ≥ 50 % testovacích organismů, provede se předběžný test s využitím vhodně zvolené škály koncentrací vodného výluhu. Za vhodně zvolenou koncentrační řadu vodného výluhu pro předběžný test se považuje řada zahrnující koncentrace s toxickým účinkem pro 0–100 % testovacích organismů. Základní test se naplánuje na základě výsledků předběžného testu. Vyplyne-li z výsledků předběžného testu, že základním testem nebude možno stanovit hodnotu LC_{50} (EC_{50} , IC_{50}), provede se ověřovací

test. V ostatních případech slouží výsledky předběžného testu pro stanovení rozsahu koncentrací pro test základní. V každém testu se nasazuje rovněž kontrola s počtem organismů, odpovídajícím metodice daného testu. Nejdříve se aplikují předběžné testy, ve kterých se vzorek o neznámé koncentraci podrobí zkoušce s testovacími organismy. Cílem je zjistit, zda vzorek vykazuje toxický účinek, tzn., zda je pozitivní. Jako negativní je označen vzorek, ve kterém nedošlo k žádnému úhynu bioty. Předběžný test se provádí ve dvou paralelních nasazeních. Negativní výsledek předběžného testu se ověřuje v šesti paralelních nasazeních. Nedojde-li v testovaných roztocích k úhynu o 10 % převyšující úhyn v kontrole, je i zde výsledek hodnocen jako negativní. Další testování se neprovádí. Je-li výsledek pozitivní, úhyn v testovaném vzorku převyší o více než 10 % úhyn v kontrole, záleží další postup na míře imobilizace či úhynu. V případě mortality nižší 50 % se další testy neprovádějí a zjištěné skutečnosti se zaznamenají do protokolu. Překročí-li mortalita 50 %, přistupuje se k orientačnímu testu.^{29, 30}

Účelem orientačního testu je určení rozmezí, ve kterém lze očekávat hodnotu EC_{50} testované látky. Cílem je zjistit nejvyšší koncentraci látky, při které ještě nedochází k úhynu či imobilizaci organismů (OC_0) a nejnižší koncentraci, která již působí letálně (OC_{100}).

Základní test slouží k vlastnímu určení hodnoty EC_{50} . Jako nejvyšší a nejnižší koncentrace ředící řady se volí limitní koncentrace zjištěné orientačním testem. Ze zjištěných údajů se spočítá hodnota EC_{50} .^{29, 30} Interval sedmi koncentrací v rozmezí OC_0 až OC_{100} je třeba rozdělit tak, abychom v ideálním případě po provedení testu obdrželi 5 hodnot tzv. parciálních mortalit, tzn. úhynů větších než 0 % a menších než 100 %. Jedna koncentrace by se měla co nejvíce blížit EC_{50} , dvě by měly být mezi hodnotou OC_0 a EC_{50} , dvě mezi EC_{50} a OC_{100} a dvě koncentrace budou odpovídat hodnotám OC_0 a OC_{100} . Rozvržení koncentrací by mělo být okolo hodnoty EC_{50} symetrické. Na obrázku 4 je znázorněn princip volby testovacích koncentrací.^{28, 30}



Obrázek 4: Graf způsobu volby testovaných koncentrací v intervalu OC_0 až OC_{100} .²⁸

Koncentrační řada by měla být logaritmická. Následující koncentrace by měla být vždy k -krát větší než-li předchozí. Koeficient (k) se vypočítá z následujícího vztahu, kde n představuje počet volených koncentrací, obvykle

$$\log k = \frac{\log(OC_0 / OC_{100})}{n - 1}$$

získaných dat úhynu, mortality se spočítá hodnota EC_{50} .

Možností, jak určit ze získaných dat o úhynu organismů hodnotu EC_{50} je více. Na grafu je patrné, že závislost mortality na koncentraci má sigmoidální charakter. Takovou závislost však nelze popsat přesnou rovnicí (pomineme-li polynomy vyšších stupňů). Nejjednodušší je postavit proti hodnotám mortality logaritmy koncentrací a závislost vyjádřit pomocí lineární regrese. V bodě EC_{50} má totiž křivka inflexní bod a v jejím okolí je její průběh přibližně lineární.^{28, 30}

5.1.4 Hodnocení odpadů

Výsledek ekotoxikologických testů je negativní, jestliže jsou splněny následující podmínky shrnuté v tabulce 18.²⁸

Tabulka 18: Podmínky pro negativní hodnocení ekotoxikologických testů.

Podmínky	
1.	V ověřovacím testu s neředěným výluhem na <i>Poecilia reticulata</i> nevykazují ryby žádné změny v chování ve srovnání s kontrolou a během testu neuhyne žádná ryba.
2.	V ověřovacím testu s neředěným výluhem na <i>Daphia magna</i> zjištěné procento imobilizace a úhynu nepřekročí 10 % ve srovnání s kontrolou (v kontrole nesmí dojít k úhynu nebo imobilizaci více než 10 % dafnií).
3.	V testu na <i>Scenedesmus quadricauda</i> (<i>Scenedesmus subspicatus</i> nebo <i>Selenastrum capricornutum</i>) se neprokáže inhibice růstu o více než 30 % ani stimulace růstu o více než 100 % ve srovnání s kontrolou.
4.	V testu s neředěným výluhem na <i>Sinapis alba</i> se neprokáže inhibice růstu o více než 30 %, ani stimulace růstu vyšší než 100 % ve srovnání s kontrolou.

Pozitivní výsledek je, jestliže není splněna minimálně jedna z podmínek uvedených v tabulce 18.²⁸

Hodnotu EC_{50} (IC_{50}) nelze určit jestliže, v testu s neředěným výluhem uhynie méně než

50 % testovacích organismů nebo je zjištěna inhibice růstu řas nebo kořene nižší než 50 %, nebo je stimulace růstu o 100 % a vyšší. Jestliže neředěný vodný výluh způsobuje mortalitu, imobilizaci nebo inhibici růstu 50 % a vyšší, stanovuje se hodnota EC_{50} , která se převede na tzv. toxikologickou jednotku (TU). Toxikologická jednotka je bezrozměrné číslo, které se vypočítá jako podíl čísla 100 /ml.l⁻¹/ a hodnoty EC_{50} .²⁸

Podle nařízení vlády České republiky se odpady rozdělují na základě vyluhovatelnosti odpadů do 4 tříd vyluhovatelnosti. Pak je možné nakládat s odpady s minimálním zatížením pro životní prostředí.²⁸

Charakteristika jednotlivých tříd je popsána v tabulce 19.²⁸

Tabulka 19: Třídy vyluhovatelnosti odpadů.²⁸

Třídy vyluhovatelnosti odpadů	
I.	Do této třídy patří odpady, kde výsledky toxikologických testů jejich vodného výluhu na všech čtyřech organismech jsou negativní.
II.	Do této třídy patří odpady, u kterých je hodnota EC_{50} vyšší než 100 ml.l^{-1} a toxikologická jednotka $TU < 1$ u nejcitlivější z testovacích organismů.
III. a IV	Odpady, kde hodnota EC_{50} je rovna nebo nižší než 100 ml.l^{-1} a toxikologická jednotka $TU \geq 1$ pro nejcitlivější z testovacího organismů.

Nebezpečné odpady, mají hodnotu EC_{50} rovnu nebo nižší než 10 ml.l^{-1} a toxikologická jednotka $TU \geq 10$ u nejcitlivější z testovacích organismů, vykazuje nebezpečnou vlastnost ekotoxicitu.²⁸

6. TESTY OECD PRO STANOVENÍ EKOTOXICITY ODPADŮ

Přehled testů mezinárodní organizace OECD je shrnut v tabulce 20. V České republice jsou používány, na základě platné legislativy, čtyři testy pro stanovení ekotoxicity odpadů, jejichž metodika vychází z principů OECD. Mezi tyto testy patří test 201, 202, 203 a 208. Další testy, které lze využít ke stanovení ekotoxicity odpadů, jsou test 204, 207, 209, 210, 211, 220, 221, 222.¹⁵

Tabulka 20: Přehled testů OECD.

Číslo	Metoda
201	Zelené řasy: zpomalení růstu – akutní (primární producent)
202	<i>Daphnia sp.</i> : znehybnění – akutní, reprodukce – chronická (primární producent)
203	Ryby: akutní (sekundární a terciární konzument)
204	Ryby: prodloužená (14 dní, sekundární a terciární konzument)
205	Ptáci: akutní orální (terciární a kvartérní konzument)
206	Ptáci: reprodukce (terciární a kvartérní konzument)
207	Žížaly: akutní (sekundární konzument)
208, 227	Vyšší rostliny: zpomalení růstu – akutní (primární producent)
209, 224	Aktivní kal z ČOV: zpomalení respirace – akutní (destruenti)
210	Ryby: ranná vývojová stádia
211	<i>Daphnia magna</i> : reprodukce – chronický
212	Ryby: krátkodobé u embrya a larvy
213, 214	Včela medonosná: akutní orální a kontaktní toxicita (primární konzument)
215	Ryby: růst mladých jedinců
216, 217	Půdní mikroorganismy: N- a O- transformace (destruenti)
218, 219	Sedlinový test na larvách pakomárů
220	Roupice: reprodukce (sekundární konzument)
221	Růstový inhibiční test na okřešku (primární producent)
222	Žížaly: test reprodukce (sekundární konzument)

6.1 Standardní testy OECD pro stanovení ekotoxicity odpadů

6.1.1 Test inhibice růstu na řase a sinici OECD 201/2006

Účel testu

Řasové testy toxicity slouží k testování možných toxických účinků látek a vzorků na vodní producenty. Zelené řasy patří do skupiny necévnatých rostlin hojně se vyskytujících v našich vodách a představujících důležitý článek potravního řetězce. Test umožňuje sledovat nejen inhibiční (toxické) účinky látek, ale také stimulační efekty, tzv. úživnost. Díky rychlému

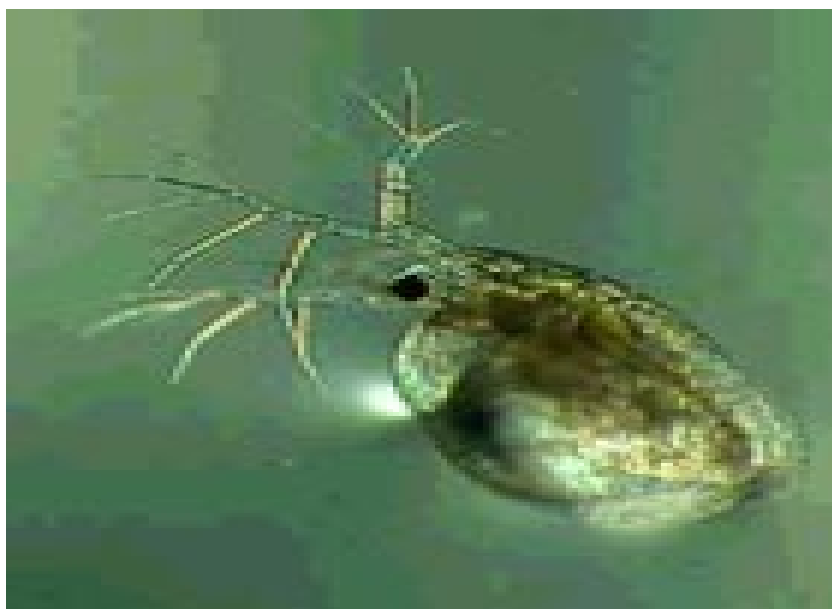
nárůstu řas je možné kromě akutního působení pozorovat i chronické účinky testovaných látek.³⁹

Charakteristika testu

Test spočívá v měření nárůstu koncentrace biomasy řas v jednotlivých testovaných koncentracích toxického vzorku ve srovnání s kontrolou tvořenou řasovým živným médiem. Řasy jsou kultivovány za stálých světelných i teplotních podmínek. Dle doby expozice lze test uspořádat jako akutní (cca 72 hodin), semichronický (cca 96 hodin) či chronický (více než 96 hodin). Zásobní kultury řas se pěstují v zábrusových baňkách za stálé aerace. Přiváděný vzduch je nejprve čištěn na bakteriálním filtru od řas či bakterií volně poletujících v okolním prostředí, poté je veden přímo do řasové suspenze.³⁹

Testovací organismus

Jako testovací organismus se používá řasa *Desmodesmus subspicatus* (dříve *Scenedesmus subspicatus*) vyobrazena na obrázku 5.³⁹



Obrázek 5: Testovací organismus - *Desmodesmus subspicatus*.⁶²

Postup provedení testu

Následující obrázek 6 znázorňuje postup provedení tohoto testu.²⁸



Obrázek 6: Postup provedení testu na *Desmodesmus subspicatus*.²⁸

6.1.2 Test akutní toxicity na perloočkách OECD 202/2004

Účel testu

Tento test slouží k testování vlivu látek na planktonní organismy. Důležitost testu spočívá v tom, že planktonní organismy slouží jako potrava rybám a tudíž jsou významnou složkou vodní biocenózy a potravního řetězce.⁴⁰

Charakteristika testu

Test je založen na sledování imobilizace perlooček v různých koncentracích testované látky po 24 (48) hodinách expozici. Expozice organismu probíhá při fotoperiodě 16 hodin světla a 8 hodin tmy za stálé teploty, bez aerace.⁴⁰

Testovací organismus

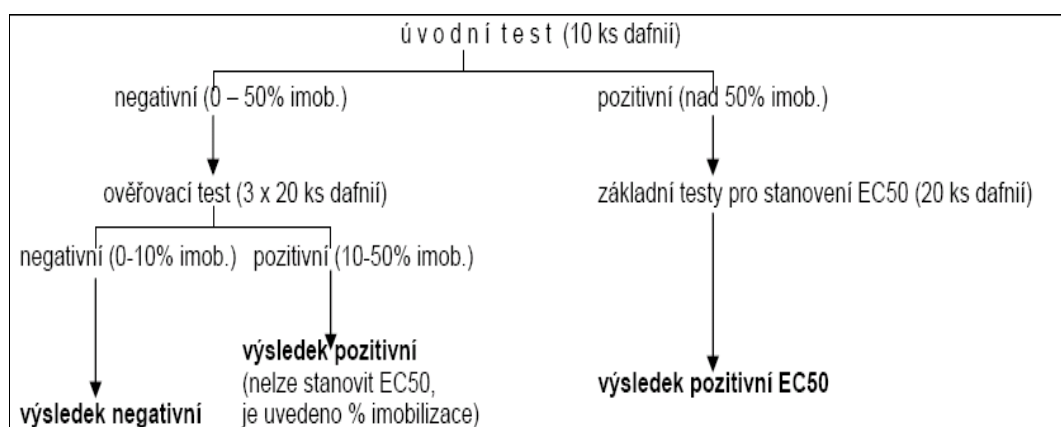
Hrotnatka druhu *Daphnia magna* znázorněna na obrázku 7 je součástí sladkovodního zooplanktonu. Patří do řádu perlooček, podtřídy lupenonožců, třídy korýšů. Jsou to drobní členovci o rozměrech 1–5 mm. Perloočky žijí ve sladkých vodách, některé i v mořích a často se vyskytují ve velkých množstvích. Živí se planktonem a organickým detritem. Vývoj jedince je přímý, bez larválních stádií. V průběhu roku se uskuteční jeden nebo několik biologických cyklů, ve kterých se střídá obvykle několik generací partenogenetických samic s oboupohlavní generací, jež cyklus uzavírá. Před zahájením vlastního testu je třeba namnožit dostatečné množství organismu. Stáří perlooček pro test není libovolné, nýbrž jsou vhodné organismy staré maximálně 24 hodin. Pro chov dobře slouží litrové kádinky, perloočky jsou pravidelně krmeny zelenou řasou *Scenedesmus*, nádrž je osvětlována v pravidelných cyklech 16 hodin světlo, 8 hodin tma při optimální teplotě chovu 20–25°C.⁴⁰



Obrázek 7: Testovací organismus - *Daphnia magna*.⁶²

Postup provedení testu

Následující obrázek 8 znázorňuje postup provedení tohoto testu. ²⁸



Obrázek 8: Postup provedení testu – *Daphnia magna*.²⁸

6.1.3 Test akutní toxicity na rybách OECD 203/1992

Účel testu

Test slouží ke stanovení vlivu látek, vodou vyluhovatelných látek z odpadu a odpadních vod na chování a přežívání ryb. ^{36, 41}

Charakteristika testu

Test spočívá ve sledování chování a přežívání ryb v odstupňovaných koncentracích testované látky po dobu 24, 48, 72 a 96 hodin. Zaznamenávají se koncentrace, které způsobí úmrtnost 50 % testovaných ryb. Probíhá při teplotě 22°C, krmení se ukončí 48 hodin před testem a celý test probíhá bez krmení a aerace. ^{36, 41}

Testovací organismus

Jako testovací organismus se používají *Poecilia reticulata*, *Brachydanio rerio*, *Cyprinus caprio*, *Lepomis macrochirus*, *Pimephales promelas*, *Oryzias latipes*, a *Oncorhynchus mykiss*.

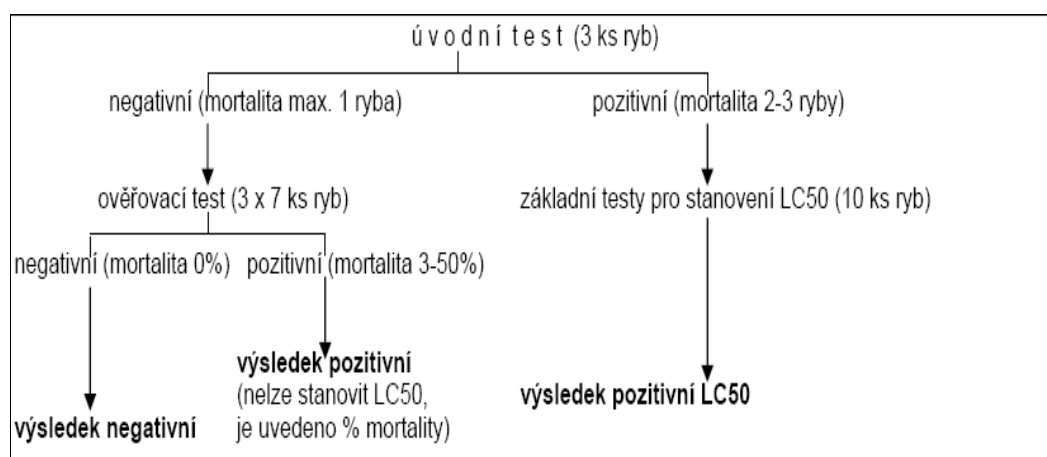
K testu se používá jedno pohlaví nebo je počet jedinců obou pohlaví vyrovnaný. Testovací organismus je vyobrazen na obrázku 9. ^{36, 41}



Obrázek 9: Testovací organismus - *Poecilia reticulata*.³⁶

Postup provedení testu

Následující obrázek 10 znázorňuje postup provedení tohoto testu.



Obrázek 10: Postup testu - *Poecilia reticulata*.²⁸

6.1.4 Testy semichronické toxicity se semeny OECD 208/2006

Účel testu

Test byl vyvinut k testování neškodnosti odpadních vod, jež by mohly být použity pro závlahy např. zemědělských plodin. **28, 46**

Charakteristika testu

Testuje se vliv vody na klíčení semen a růst kořenů hořčice bílé *Sinapis alba* v počátečních stádiích vývoje. Test spočívá v kultivaci semen na podložkách nasycených roztoky zkoumané látky ve srovnání se semeny, které rostou na podložce nasycené ředící vodou. V testech toxicity představuje hořčice zástupce kulturních plodin a vyšších rostlin vůbec. Test trvá 14 až 21 dní. Hodnotí se délka, počet vyklíčených semen, délka, tvar a hmotnost kořene, defekty tvorby chlorofylu na světle, množství chlorofylu, aktivitu enzymů atd. **28, 46**

Testovací organismus

Hořčice bílá, *Sinapis alba*, (*Brassica alba* L.) znázorněna na obrázku 11 patří do čeledi brukvovitých, *Brassicaceae*. Je to jednoletá, časně jarní rostlina – olejníka. V půdě setrvává tenkým větvenitým kořenem. Lodyhu má vzpřímenou, roztroušeně chlupatou, až 150 cm vysokou s listy jasně zelené barvy. V dolní části jsou listy pravidelně lyrovitě peřenoklané až peřenodílné, v horní části trojklané. Květy jsou oboupohlavné čtyřčetné s chlupatými stopkami. Zpočátku jsou sestaveny v klubkaté květenství, později v protáhlé hrozny, kde jednotlivé květy kvetou odspodu. **28, 46**

Při jarním výsevu květiny kvetou v květnu až červenci, při letním lze kvetoucí hořčice vidět až do pozdního podzimu. Plody jsou odstálé, bílé štětinaté šešule, s trojžilnými až pětizilnými chlopněmi a se zmáčkým, mečovitě zahnutým zobanem, který je obvykle delší nežli samotná šešule. Kvetoucí rostliny jsou opylovány hmyzem, nejčastěji včelami, jimž poskytují pastvu v letním a podzimním období. Pěstuje se především pro semeno, ze kterého se vyrábějí doplňky jídel. Olej, kterého obsahuje semeno 24-32%, je využíván v potravinářském průmyslu i pro technické účely na výrobu mýdel, ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu. Patří zároveň mezi krmné plodiny. Hořčice pochází z jihovýchodního Středomoří, kde byla pěstována starověkými civilizacemi již 2000 let před naším letopočtem. V Evropě začala být pěstována v raném středověku. Největší plochy hořčice bílé jsou v Rusku, Indii a Číně. **28, 46**

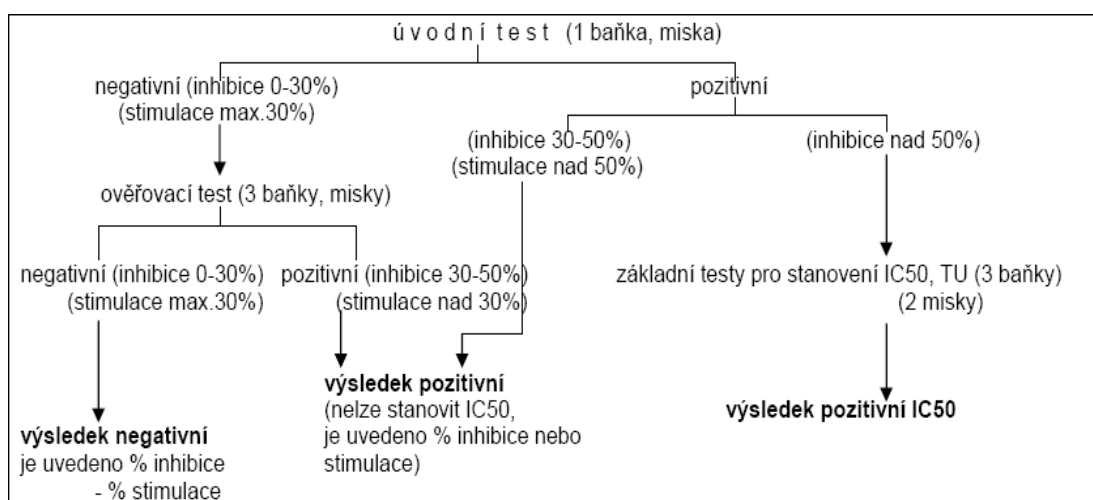
Semeno rostliny je na brukvovité rostliny poměrně velké, je žluté nebo bělavě žluté kulovitěho tvaru. Dosahuje průměru 1,5 - 4 mm, hmotnost tisíce semen se pohybuje od 3 do 6,8 g. Po vyklíčení vyrůstá jednoduchý kořen s hypokotylem. Později je kulovitý a bohatě rozvětvený. Rostlině se nejlépe daří na středně hlinitých nebo hlinitopísčítých půdách, dobře hnojených, s dostatkem vápníku a s neutrální až mírně alkalickou půdní reakcí. **28, 46**



Obrázek 11: *Sinapis alba* – rostlina. ¹⁵

Postup provedení testu

Následující obrázek 12 znázorňuje postup provedení tohoto testu.²⁸



Obrázek 12: Postup testu - *Sinapis alba*.²⁸

6.2 Další testy OECD pro stanovení ekotoxicity odpadů

6.2.1 Testy s vodnými výluhy odpadů

6.2.1.1 Prolongovaný test toxicity na rybách OECD 204/1984

Účel testu

Test určuje smrtící a další pozorovatelné efekty na rybách, které jsou vystaveny testované substanci. Je určen pro oblast odpadních vod a látek, které mohou negativně ovlivnit přežití a chování ryb. Proto je možné test využít pro vodné výluhy odpadů. Může nahrazovat test akutní toxicity na rybách OECD 203/1992, pokud je nutné prodloužit dobu pozorování vzhledem k testované substanci.^{36, 42}

Charakteristika testu

Test probíhá po dobu 14 dní. Po ukončení doby testování sledujeme zrychlené dýchání, křečovitě pohyby, ztrátu stability, neklid a zrychlené pohyby, úhyn, změnu pH. Během testu probíhá krmení a expozice je semistatická nebo průtočná. Výsledkem je koncentrace, která vyvolá 50% úhyn ryb za dobu působení 14 dní (LC50) a koncentrace, která nezpůsobí úhyn ryb (NOEC).^{36, 42}

Testovací organismus

Pro test se používá stejný testovací organismus jako pro test akutní toxicity na rybách. K těmto organismům patří *Poecilia reticulata*, *Brachydanio rerio*, *Cyprinus caprio*, *Lepomis macrochirus*, *Pimephales promelas*, *Oryzias latipes*, a *Oncorhynchus mykiss*.

K testu se používá jedno pohlaví nebo je počet jedinců obou pohlaví vyrovnaný. Jeden z testovacích organismů je vyobrazen na obrázku 13.^{36, 42}



Obrázek 13: Testovací organismus - *Oryzias latipes*.³⁶

6.2.1.2 Test reprodukce na *Daphnia magna* OECD 211/1998

Účel testu

Test má hodnotit efekt chemikálií na reprodukci *Daphnia magna*. Je vhodný pro vodné výluhy odpadů.⁴⁹

Charakteristika testu

Tento test se specializuje na testovací druh *Daphnia magna*. Doba je prodloužena na 21 dní, expozice se provádí semistaticky. K testu se používá 40 jedinců. Tento počet je rozdělen do 4 skupin po 10 jedincích. Jedna skupina jedinců je od ostatních před testem oddělena a slouží jako kontrola. Na konci testu se zjišťuje počet potomstva vyprodukovaného dospělými jedinci. Během testu se odumřelí jedinci odebírají, aby nemohly ovlivnit výsledek testu. Je určena koncentrace, která určuje koncentraci, jež by způsobila x % snížení reprodukce (EC₅₀, EC₂₀ nebo EC₁₀).⁴⁹

Testovací organismus

Testovací organismus je popsán v kapitole 6.1.2.⁴⁹

6.2.2 Kontaktní testy

Hodnocení ekotoxicity provedené na základě testů s vodnými výluhy přináší mnoho úskalí. V tuhém odpadu se může vyskytnout ve vodě nerozpustný a na pevných částicích nasorbovaný toxický polutant a zvolená sada testů ekotoxicity ho nemůže postihnout. Mezi polutanty prakticky nerozpustné ve vodě, které se silně sorbují na pevné částice, patří polychlorované bifenyly (PCB), vyšší polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU), polychlorované dibenzodioxiny (PCDD), některé chlorované herbicidy a pesticidy a polychlorované dibenzofurany (PCDF) a jiné látky. Jsou to látky jejichž nebezpečnost je prokázána. Je jasné, že ekotoxicita nebezpečných odpadů, které obsahují ve vodě nerozpustné polutanty, stanovená jen ve vodném výluhu dává výsledky ne zcela objektivní. Ve světě jsou pro zjišťování ekotoxicity tuhých odpadů zavedeny kontaktní testy, které se realizují přímo v pevném odpadu. Ve většině zemí se ekotoxicita odpadů stanovuje sadou testů, která zahrnuje organismy tří trofických úrovní a provádí se jak s výluhem, tak v kontaktním uspořádání. Nejčastějšími bioindikátory pro kontaktní testy jsou žížaly *Eisenia fetida* či *Lumbricus terrestris*, půdní bezobratlí, testy s půdními mikroorganismy a semeny rostlin.¹⁷

6.2.2.1 Test akutní toxicity na žížale OECD 207/1984

Účel testu

Test je určen pro vzorky ve vodě rozpustné i nerozpustné. Z tohoto důvodu lze test použít pro stanovení ekotoxicity pevných odpadů.^{33, 35, 45}

Charakteristika testu

Tento test lze provádět jako kontaktní test toxicity na filtračním papírem nebo test na umělé půdě.^{33, 35, 45}

Kontaktní test na filtračním papíře

Délka tohoto testu je 48 hodin. Test je prováděn ve zkumavkách na navlhčeném filtračním papíru a ve tmě. Optimální teplota pro test je 20°C. Na jednu testovanou koncentraci je použito 10 opakování, přičemž do každé zkumavky je dán jeden organismus. Je prováděn předběžný test, při kterém je zjišťována koncentrační škála pro finální test. Následně je prováděn finální test, z jehož výsledků jsou pak zjištěny hodnoty LC₅₀. Látka je aplikována ve vodném roztoku či volatilním rozpouštědle, které je nutno před zahájením pokusu z filtračního papíru odpařit a následně pak filtrační papír ovlhčit vodou. Koncentrace aplikované látky se udává v mg.cm⁻² a doporučené koncentrace pro předběžný test jsou 1; 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001. Mortalita se zjišťuje po 24 a 48 hodinách (žížala nereaguje na jemný mechanický stimul). Tato metoda je jednoduchá a rychlá a dobře reprodukovatelná. Nevýhodou tohoto testu je, že je zjišťována především expozice přes pokožku, proto je zde nemožná extrapolace na reálné podmínky. **33, 35, 45**

Test na umělé půdě

V tomto testu je zjišťována akutní toxicita chemických sloučenin po 7 a 14 dnech testu. Test je prováděn v 1-2l nádobách, do kterých je umístěno 500g umělé půdy (křemenný písek 70%, jíl 20%, rašelina 10%), která je pomocí CaCO₃ upravená na pH 6,0 ±0,5. Půda je ovlhčena na 40-60% WHC. Na pokus jsou vybrány pouze žížaly 2 měsíce staré o váze 300-600 mg s vyvinutým opaskem. Pokus je prováděn při teplotě 20 ±2°C. Je prováděn předběžný test, při kterém je zjišťována koncentrační škála pro finální test. Koncentrace používané v předběžném testu jsou 0,1; 1;10; 100; 1000 mg.kg⁻¹. Do každé testovací nádoby je umístěno 10 organismů a pro každou koncentraci jsou 4 opakování. V tomto testu jsou mrtvé organismy počítány po 7 a 14 dnech. Pro finální test je vybráno 5 koncentrací na základě výsledků předběžného testu. Při tomto testu jsou opět použity 4 opakování na koncentraci a kontrolu. Po 14 dnech testu je zjišťován celkový počet jedinců v každé nádobě, množství biomasy žijících žízal, obsah vody a pH v půdě. Obsah vody a pH jsou v půdě zjišťovány na začátku a na konci pokusu. Následně je z výsledků zjištěna LC₅₀ pro danou testovanou látku.

Doporučuje se užití referenční látky - chloracetamid (LC₅₀ mezi 20 a 80mg/kg), kontrola mortalita méně než 10% a úbytek váhy menší než 20%. **33, 35, 45**

Testovací organismus

Žížaly mohou reprezentovat až 60-80% celkové živočišné biomasy v půdě a jsou jedněmi z nejdůležitějších organismů půdních ekosystémů. Jsou to typické půdní organizmy (geobionti) a staly se nejčastěji používanými půdními bezobratlými v ekotoxikologických testech, neboť citlivě reagují na změny kvality půdy, podílejí se na komplexních procesech dekompozice, degradace rostlinných zbytků a mineralizace organického materiálu. Promíchávají půdu a tím zlepšují její provzdušnění, transport vody a celkovou strukturu půdy, což příznivě ovlivňuje její úrodnost. Díky svému rozšíření a klíčové pozici v půdním systému jsou žížaly výborným indikačním organismem pro hodnocení podmínek půdního prostředí, případně kontaminace půdy toxickými látkami. Ukázka organismů je na následujícím obrázku 14. **33, 35, 45**



Obrázek 14: Testovací organismus *Eisenia fetida*.³³

6.2.2.2 Test reprodukce na rouspici OECD 220/2004

Účel testu

Test je používán pro hodnocení ekotoxikologických rizik pro látky ve vodě rozpustné i nerozpustné. Tento test lze použít pro pevný odpad. Není vhodný pro substance, které obsahují těkavé látky. ^{33, 35, 58}

Charakteristika testu

Test se provádí v 10 g vzorcích umělejší půdy obsahující testovanou látku v různých koncentracích. Test trvá 4 - 6 týdnů, přičemž se v polovině této doby odstraní dospělci a určí se efekt na mortalitu. Na konci testu se extrahují zárodky, vyprodukované dospělými jedinci, které se barví bengálskou červení a počítají se. Tímto je získán údaj o reprodukci. ^{33, 35, 58}

Testovací organismus

Rouspice jsou nevýrazně zbarvení červi, od bílé a šedé, přes žlutou až po hnědou barvu. Jejich délka těla je asi 10-30 mm a jejich tělo se skládá ze segmentů (cca 15-20 ks segmentů). Rouspice obývají suchozemský, mořský i sladkovodní prostředí. V půdním prostředí žijí rouspice v prostoru mezi půdními částicemi částečně či zcela vyplněném půdní vodou. K expozici chemickými látkami tedy dochází přes povrch těla z okolní pórové vody nebo požitím kontaminované potravy. Jsou to hermafroditi, obvyklý způsob rozmnožování těchto organismů spočívá ve vzájemné výměně spermatozoí mezi dvěma oboupohlavními jedinci. *Enchytraeidae* jsou nejčastěji používány v testech toxicity, kde jsou sledovány akutní či subletální účinky jak chemických individuů, tak směsí látek. Testovací organismus je znázorněn na obrázku 15. ^{33, 35, 58}



Obrázek 15: Testovací organismus – *Enchytraeidae*.³⁵

6.3 Alternativní testy pro stanovení ekotoxicity odpadů

Pro stanovení ekotoxicity pevných odpadů nebo jejich výluhů a kapalných odpadů je možné využít alternativní biotesty (producent, konzument, destruent). Přehled alternativních testů, které vycházejí z metodik mezinárodní organizace OECD je uveden v tabulce 21.^{23, 38}

Tabulka 21: Přehled alternativních testů pro výluhy a kapalně odpady vycházející z OECD.

Trofická úroveň organismu	Název testu	Testovací organismus
Producent	ALGALTOXKIT F TM	<i>Raphidocelis subcapitata</i>
Konzument	DAPHTOXKIT F TM velký	<i>Daphnia magna</i>
	DAPHTOXKIT F TM pulec	<i>Daphnia pulex</i>
Destruent	PROTOXKIT F TM	<i>Tetrahymena thermophila</i>

6.3.1 Algaltokit FTM

Charakteristika

Algaltokit je alternativní test toxicity, který je pro sladkovodní a terestrické prostředí. Zkušebními organismy jsou zelené řasy mikroskopických rozměrů *Selenastrum capricornutum* (přejmenovaný *Raphidocelis subcapitata*). Klidová stadia řas vytvářejí útvary zvané řasové korále. Velikost korálů je asi 2 mm a v jednom korálu se nachází až jeden milión řasových buněk.^{24, 32} Pěstování a skladování korálů zelených řas se provádí ve speciálním roztoku, který garantuje vysoce jednotnou kvalitu a shodnou standardní velikost (10 cm) zkušebních organismů. Převedení řas z imobilizovaného stavu do aktivního trvá zhruba 30 minut. Časová náročnost testu je 72 hodin a sleduje se při tom růstová inhibice mikroskopických řas. Během testu se jednouchým spektrofotometrem měří optická hustota

testovaného vzorku se zelenou řasou. Ze stanovené optické hustoty se zjistí koncentrace počtu buněk řas ve vzorku, protože v jistém rozsahu vlnových délek (zde 670 nm) platí přibližně lineární vztah mezi koncentrací buněk a optickou hustotou. Optická hustota se zaznamenává vždy po 24 hodinách. Ze zjištěných hodnot se vypočte hodnota EC_{50} . **24, 32**

Balení algaltoxkitu obsahuje všechny pomůcky potřebné k testování životního prostředí, brožuru s přesným operačním postupem a ilustracemi pro snadné vykonání dvou 72 hodinových inhibičních testů. Obsah je předepsaný mezinárodní organizací OECD. **24, 32**

6.3.2 Daphtoxkit FTM velký a Daphtoxkit FTM pulex

Charakteristika

Další alternativní test toxicity pro sladkovodní a terestrické životní prostředí, který je založen na pozorování pohyblivosti, znehybnění nebo až usmrcení sladkovodního korýše Dafnie velké (*Daphnia magna*) nebo Dafnie pulex (*Daphnia pulex*). Standardní délka testu je 24 až 48 hodin. Zkušební organismy jsou uchovávány ve své spící formě zvané spící vejce (ephippia). Ehippia se chovají a skladují v roztoku se striktně regulovanými veličinami s deionizovanou vodou, který předem zamezí proměnlivost přidruženou s údržbou inventářů živých organismů, které se uplatňují v rámci u klasických testů. Přesné podmínky údržby spících forem daphnií tak zaručují jejich vysokou a jednotnou kvalitu. Vhodně uskladněné ehippia vydrží v dobrém stavu až několik měsíců. V případě pohotovosti mohou být korýši asi během 72 hodin probuzeny a uvedeny tak do aktivní formy. Ke zkušebnímu výkonu mikrobiotestu daphtoxkit postačí minimálního vybavení (mikroskop, malá umělá líheň, konvenční sklo laboratorní). Sada daphtoxkit obsahuje všechny materiály (detailní operační postup i s ilustracemi, protokol, formuláře, které vyhodnotí zjištěné data i s výpočtem hodnot LC_{50} nebo EC_{50} , formulář, umožňující grafické zpracování dat) k tomu, aby mohlo být snadno provedeno šest akutních 48 hodinových testů pohybové inhibice až usmrcení testovaného jedince. **25, 26, 32**

Výsledkem testu je tedy hodnota EC_{50} nebo LC_{50} . Test předepsaný mezinárodní organizací OECD. **25, 26, 32**

6.3.3 Protoxkit FTM

Charakteristika

Miniaturizovaná chronická zkouška toxicity, která jako zkušební materiál uplatňuje jednobuněčného sladkovodního nálevníka *Tetrahymena thermophila*. *Tetrahymena* obývá kalné vody a jejím nepopiratelným kladem je, že se snadno pěstuje v laboratorních podmínkách. Nálevníci spolu s bakteriemi hrají klíčovou roli v recyklaci organické odumřelé hmoty. Nálevníky proto najdeme ve znečištěných vodách, kde tvoří mikroskopický živočišný bentos. Zkušební materiál se nachází opět v ustáleném stavu. Stálé kultury vyprodukované ve striktně regulovaných veličinách předem zamezí proměnlivost, která je právě typická při údržbě živých organismů, používaných při konvenčních testech. Nálevníci vydrží v ustáleném stavu při pokojové teplotě až několik měsíců ve výborném fyziologickém stavu. Samotná testovací akce trvá zhruba 24 hodin, při stálé teplotě 30 °C. Po uplynutí stanovené doby se sleduje inhibice růstu prvoka *tetrahymena*. Růstová inhibice se projeví zvýšením optické hustoty v důsledku zakalení vody potravou. Na základě naměřených dat se vypočte hodnota EC_{50} . **27, 32**

Sada toxkit obsahuje všechny pomůcky a materiály (umělá líheň, kolorimetr nebo spektrofotometr, běžné laboratorní sklo, detailní operační postup s ilustracemi, vyhodnocovací formuláře, grafické EC₅₀ výpočtové formuláře) nezbytné pro vykonání šesti chronických testů toxicity.^{27, 32}

Nevýhodou tohoto mikrobiotestu může být velikost vírníků. Činí s nimi obtížnější počáteční manipulaci. Řídí se směrnicí OECD.^{27, 32}

6.4 Charakteristika dalších testů OECD

6.4.1 Test akutní orální toxicity na ptácích OECD 205/1984

Účel testu

Tento test se používá ke zjištění vlivu antropogenních kontaminant (pesticidy, odpady atd.) na volně žijící ptáky. Testuje nové látky a přípravky, které by se mohly kumulovat v rostlinách a zvířatech a tím ohrozit volně žijící ptáky.^{37, 43}

Charakteristika testu

Test není vhodný pro substance, které obsahují těkavé látky. Pták je odchycen večer. Ráno mu je aplikována jednorázová dávka. Ptáci jsou po dobu testu, který probíhá pět dní, krmeni substancí obsahující zkoumanou substanci. Šestý den je podáno krmení bez testovací substance a pak následně ještě tři dny. Během celého testu je zaznamenána mortalita jedinců. Sleduje se doba od aplikace po první příznaky toxicity, mortalita a doba potřebná pro detoxikaci a obnovení fyziologických funkcí, abnormální chování, váha jedince a množství krmení.^{37, 43}

Testovací organismus

Jako testovací organismus se používají volně žijící ptáci kachna divoká, křepelka virginská a japonská, holub, bažant obecný a koroptev. Ptáci vhodní pro test musí být zdraví, nejeví žádné zjevné deformace. V místě zajetí se sleduje teplota, vlhkost a osvětlení. Jedinci pro test a kontrolu musí být stejného druhu věku (u mláďat je možné stáří 10 – 17 dní).^{37, 43}

Jeden z možných testovacích organismů je na obrázku 16.



Obrázek 16: Testovací organismus - Kachna divoká.⁶³

6.4.2 Test chronické toxicity reprodukce na ptácích OECD 206/1984

Účel testu

Podporuje registraci nových látek a přípravků, které by mohly vyvolat chronickou toxicitu nebo vykázat vliv na reprodukci organismu.^{37, 44}

Charakteristika testu

Test není určen pro substance obsahující vysoce těkavé a nestabilní složky. Ptáci jsou krmeni testovanou substancí o různé koncentraci po dobu nejméně 20 týdnů. Je ovlivněno snášení vajec - úpravou periody. Po 10 týdnech jsou vejce sesbírány a přemístěny do umělé líhně, kde se po 14 dnech líhnou mladí jedinci. Sleduje se úmrtnost dospělých jedinců, oplozenost a produkce vajec, kvalita skořápky (praskliny, tloušťka), líhnivost kuřat a vliv na potomstvo (deformace mozku, očí, nohou a křídel).^{37, 44}

Testovací organismus

Jako testovací organismus se používají ptáci kachna divoká, křepelka virginská a japonská. Mohou být koupeni nebo vychováni v laboratoři, ale musí být zachována podobnost volně žijícím ptákům. K testu jsou použiti zdraví, bez zranění, nejeví žádné zjevné deformace. Jedinci pro test a kontrolu musí být stejného druhu a věku.^{37, 44}

6.4.3 Akutní test zpomalení respirace na aktivním kalu OECD 209/1984

Účel testu

Tato směrnice slouží ke zjištění koncentrace testované látky, která může inhibičně ovlivnit přístup kyslíku při aerobním čištění odpadních vod.⁴⁷

Charakteristika testu

Délka testu je 30 minut až 3 hodiny, během které probíhá provzdušňování. To zajišťuje kontakt s testovanou látkou. Test se provádí při teplotě 20 ± 2 °C. Sleduje se rychlost dýchání mikroorganismů v aktivním kalu. Porovnávají se různé koncentrace testované látky.⁴⁷

Testovací materiál

K testu se běžně používá aktivní kal z čistíren odpadních vod. Mělo by být získáno převážně z kanalizačních splašků. V krajním případě je možné použít aktivní kal z průmyslových splašků. Vlastnosti průmyslových splašků se mohou lišit a tím podávat netypické výsledky. Vzorek aktivního kalu se v laboratoři pere pitnou vodou, odstředí a případně cedí. Toto se provede třikrát. Následuje sušení a vážení. Když není možné každodenní odběr aktivního kalu, je možné si tento kal připravit uměle v laboratoři.⁴⁷

6.4.4 Embryolarování test na rybách OECD 210/1998

Účel testu

Test je určen pro posouzení vlivu testované látky na raná vývojová stadia ryb.^{36, 48}

Charakteristika testu

Raná stadia ryb jsou vystaveny řadě koncentrací zkušební látky rozpuštěné ve vodě. Test trvá 31 dní. Expozice je nejčastěji provedena průtočným systémem. Test je započat umístěním jiker do komor, kde jsou během testu krmeny.^{36, 48} Ke sledovaným parametrům patří líhnutí a přežívání embryí, vzhled váčkovitého plůdku, rozdíly v chování, pohyblivost, na konci testu to je délka a hmotnost, anomálie ve vývinu. Je zaznamenávána teplota, množství kyslíku, pH a koncentrace látky v testu.^{36, 48} Výsledek je určení koncentrace LOEC a NOEC.^{36, 48}

Testovací organismus

Nejčastěji se k testu používá kapr obecný. Lze použít dalších 16 druhů ryb.^{36, 48}

6.4.5 Embryonální test toxicity na rybách OECD 212/1998

Účel testu

Test je určen pro posouzení vlivu testované látky na raná vývojová stadia ryb. Nenahrazuje test OECD 210.^{36, 50}

Charakteristika testu

Zárodek je vystaven řadě koncentrací testované látky rozpuštěné ve vodě. Expozice oplodněných jiker může být provedeno v průtočném nebo semistatickém systému. Výběr je ovlivněn povahou testovací substance. Doba trvá je 6 – 7 dní. Test je započat vložení vajíček do testovacích komor a ukončen těsně před tím než dojde k úplné absorpci žloutkového váčku v kontrole.^{36, 50} Ke sledovaným parametrům patří líhnutí a přežívání embryí, vzhled váčkovitého plůdku, rozdíly v chování, pohyblivost, na konci testu to je délka a hmotnost, anomálie ve vývinu. Je zaznamenávána teplota, množství kyslíku, pH a koncentrace látky v testu. Výsledek je určení koncentrace LOEC a NOEC.^{36, 50}

Testovací organismus

K testu je využíváno 11 druhů ryb k nim patří sladkovodní ryby: *Oncorhynchus mykiss*, *Brachydanio rerio*, *Cyprinus carpio*, *Oryzias latipes*, *Pimephales promelas*.^{36, 50}

K dalším sladkovodním druhům patří *Carassius auratus*, *Lepomis macrochirus* a mořským druhům patří *Menidia peninsulae*, *Clupea harengus*, *Gadus morhua* a *Cyprinodon variegatus*.^{36, 50}

6.4.6 Orální test akutní toxicity na včele OECD 213/1998

Účel testu

Test je určen pro zjištění akutní orální toxicity, kterou mohou způsobit používané pesticidy a jiné chemické látky pro včelu medonosnou.^{19, 51}

Charakteristika testu

Dospělí jedinci včely medonosné – dělnice jsou vystaveny řadě koncentrací, které jsou rozpuštěny v roztoku sacharózy. Zároveň je prováděna zkouška, kdy je jedincům podáván roztok sacharózy bez testované substance.^{19, 51} Po dobu 48 hodin se zaznamenává úmrtnost. Výsledky se porovnávají s kontrolou. Pokud má křivka úmrtnosti rostoucí charakter z dat získaných v období 24 až 48 hodin, zatímco kontrola se nemění, test je prodloužen na 96 hodin. Hodnoty slouží pro určení LD₅₀. Na konci testu nesmí úmrtnost přesáhnout 10 %.^{19, 51}

Testovací organismus

K testování slouží včela medonosná. Jedinci musí být podobného stáří, zdraví, bez zjevných chorob atd.. Testovací organismus je znázorněn na obrázku 17.



*Obrázek 17: Testovací organismus - Včela medonosná.*⁶³

6.4.7 Kontaktní test akutní toxicity na včelách OECD 214/1998

Účel testu

Slouží k hodnocení kontaktní toxicity pesticidů a chemických látek pro včelu medonosnou.^{19, 52}

Charakteristika testu

Testovaná substance je rozpuštěna ve vhodném rozpouštědle a aplikována přímo na těla včel. Test trvá 48 hodin. Doba může být prodloužena na 96 hodin, případe zvyšujících se hodnot úmrtnosti časovém intervalu 24 až 48 hodin. Denně zaznamenáváme úmrtnost jedinců. Ze zjištěných dat se určí hodnota LD₅₀ po 24, 48 v prodlouženém testu po 72 a 96 hodinách.^{19, 52}

Testovací organismus

Jako testovací organismus se používá včela medonosná.

6.4.8 Růstový test na rybách OECD 215/2000

Účel testu

Posouzení účinků dlouhodobé expozice chemickými látkami na růst nedospělých ryb.^{36, 53}

Charakteristika testu

Testovací organismus se vkládá do testovacích komor a je vystaven subletálním koncentracím testované látky. Uspořádání testu může být průtočné nebo semistatické. Expozice je 28 dní. Ryby jsou denně krmeny. Množství krmení určuje počáteční hmotnost ryb a může být změněna po 14 dnech. Na konci testu jsou ryby znovu váženy. Ke sledovaným parametrům patří přírůstek ryb, teplota, pH, koncentrace testované látky. Na konci testu se odhaduje koncentrace, která by způsobila změnu rychlosti růstu ryb. Nebo ze získaných dat je možné určit nejnižší koncentraci, která může ovlivnit rychlost růstu ryb (LOEC).^{36, 53}

Testovací organismus

K testu je doporučován nedospělý pstruh duhový *Oncorhynchus mykiss*, *Brachydanio rerio*.^{36, 53}

6.4.9 Dusíkový transformační test na půdních mikroorganismech OECD 216/2000

Účel testu

Test sleduje dlouhodobé efekty chemikálií na činnost mikroorganismů v půdě. Byl navržen pro ochranu zemědělských rostlin.⁵⁴

Charakteristika testu

Podstata dusíkového a uhlíkového testu je stejná liší se pouze skupinou mikroorganismů. K testování se používají nejméně dvě koncentrace substance. Po 7, 14 a 28 dnech inkubace se vzorky a kontrola extrahuje vhodným rozpouštědlem. V extraktu se stanovuje množství dusíku. V případě, že množství dusíku po 28 dnech po srovnání s kontrolou stejné nebo vyšší než 25 % je test prodloužen na 100 dnů. Na konci testu se vypočítá hodnota EC₁₀, EC₂₅, EC₅₀.⁵⁴

Testovací organismus

Mikroorganismy hrají důležitou roli při rozkladu organické hmoty. To zvyšuje úrodnost půd. Při negativním zásahu do těchto biochemických procesů, může ovlivnit koloběh živin a tím úrodnost půd.⁵⁴

6.4.10 Uhlíkový transformační test na půdních mikroorganismech OECD 217/2000

Účel testu

Test sleduje dlouhodobé efekty chemikálií na činnost mikroorganismů v půdě. Byl navržen pro ochranu rostlin.⁵⁵

Charakteristika testu

Podstata uhlíkového testu je stejná jako u dusíkového testu. Liší se pouze skupinou použitých mikroorganismů. K testování se používají nejméně dvě různé koncentrace substance. Po 7, 14 a 28 dnech inkubace se vzorky a kontrola je smíchána s glukózou. Po 12 hodinách se sleduje respirace. Respirace se vyjadřuje jako množství CO_2 / kg půdy. V případě, že jsou hodnoty respirace po 28 dnech po srovnání s kontrolou stejné nebo vyšší než 25 % je test prodloužen na 100 dnů. Na konci testu se vypočítá hodnota EC_{10} , EC_{25} , EC_{50} .⁵⁵

Testovací organismus

Mikroorganismy hrají důležitou roli při rozkladu organické hmoty. To zvyšuje úrodnost půd. Při negativním zásahu do těchto biochemických procesů, může ovlivnit koloběh živin a tím úrodnost půd.⁵⁵

6.4.11 Sedlinový test na larvách pakomára OECD 218/2004 a OECD 219/2000

Účel testu

Hodnotí dlouhodobé efekty chemikálií na larvy sladkovodního hmyzu přenášející infekci.^{56, 57}

Charakteristika testu

Larvy jsou nasazovány ve stáří 10 dní. Jsou vystaveny řadě koncentrací testované substance. Na konci testu se sleduje vznik a vývoj dospělých pakomárů. Po 10 dnech je možné stanovit hmotnost a další vývoj. Na základě těchto dat je určena koncentrace, která sníží larvální vývoj.^{56, 57}

Testovací organismus

Pakomár je sladkovodní dvoukřídle hmyz. Larvy jsou během testu krmeny 250 mg/na nádobu na den.^{56, 57}

Testovací organismus vidíme na obrázku 18.



Obrázek 18: Testovací organismus - larva pakomára.¹⁵

6.4.12 Růstový inhibiční test okřehku menšího OECD 221/2006

Účel testu

Test se používá k testování toxicity roztoků a suspenzí vůči zástupci vyšších vodních rostlin okřehku menšímu (*Lemna minor* L.). Testuje se, obdobně jako u řas, inhibice růstu podle růstové křivky. Délka expozice je 7 dní. Z tohoto pohledu lze hovořit o toxicitě při semichronické expozici. Je zahrnut jak okamžitý účinek při uvedení organismu do testu, tak i dlouhodobé působení, které se projeví v inhibici nárůstu nových generací.^{59, 61}

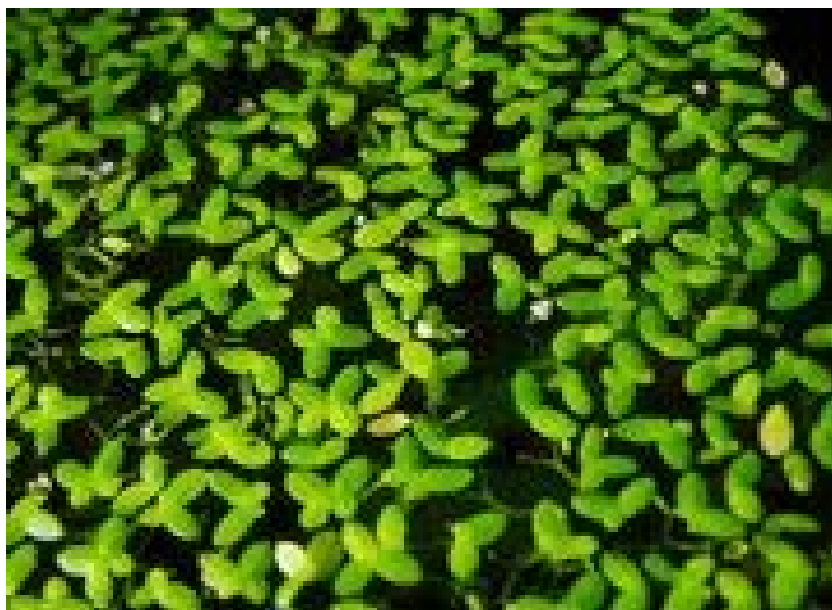
Charakteristika testu

Rostliny okřehku menšího se nechají růst v různých koncentracích testované látky rozpuštěné v živném roztoku. Současně se nasadí testovací rostliny do kontrolního živného roztoku bez testované látky. V intervalu 24 hodin se kontroluje a zaznamenává stav rostlin a počet lístku. Cílem testu je kvantifikovat účinky látky na vegetativní růst okřehku posouzením počtu listu - rychlosti růstu a alespoň jedné ze tří volitelných charakteristik: velikosti listové plochy, hmotnosti sušiny nebo obsahu chlorofylu. Srovnání růstu v testovaných roztocích a kontrole se stanovuje pomocí koncentrace IC_{50} , lze zjišťovat i hodnoty LOEC a NOEC. V některých případech může testovaná látka vykazovat stimulaci růstu, potom se hodnota IC_{50} nestanovuje. Pokud testovaná látka působí stimulačně pouze v nízkých koncentracích, vyhodnocuje se IC_{50} za použití koncentrací s prokázanou inhibicí růstu.^{59, 61}

Testovací organismus

Okřehek menší je drobná vodní rostlina s plochými lístky, kožovité konzistence, s jedním lístkem i kořínek, zdravé kolonie jsou tvořeny 2 - 5 lístky. Květy mají jednu tyčinku a jeden semeník, obvykle se však nevyvíjejí. Roste ve stojatých nebo mírně tekoucích vodách v nížinách.^{59, 61}

Testovací organismus je vyobrazen na obrázku 19.



Obrázek 19: Testovací organismus - Okřehek malý.⁶⁰

6.4.13 Test reprodukce u žížal OECD 222/2004

Účel testu

Tento test byl vyvinut pro vyhodnocení efektů chemikálií na reprodukci, růst a přežití žížal. Princip testu je obdobný jako u testu akutní toxicity na žížale OECD 207.^{35, 60}

Charakteristiku testu

Žížaly jsou vystaveny řadě koncentrací testované substance, která je vmíchána do půdy, v případě pesticidů je substance aplikována na půdu nebo do půdy. Koncentrace je volená tak, aby způsobila oba efekty (subletální i smrtící) po dobu 8 týdnů. Mortalita a biomasa jsou zjišťovány po 4 týdnech pokusu. Efekt na reprodukci je zjišťován až po dalších 4 týdnech. Předběžný test je stejný jako u testu akutní toxicity. Při finálním testu je kvůli délce testu nutné přidávat potravu - 0,5g hnoje na jedince a na týden. Nejdříve je do testovací nádoby aplikována látka o dané koncentraci a následně jsou přidány žížaly – deset žížal (u kterých byla zjištěna hmotnost) na jednu testovací nádobu. Po čtyřech týdnech je zjišťována mortalita, množství živé biomasy, spočítají se kokony a juvenilové.^{35, 60}

Pro zjišťování reprodukce jsou dospělci z nádob vyjmuti a kokony a juvenilové se inkubují další čtyři týdny. Po čtyřech týdnech následuje extrakce juvenilů ručním tříděním, pomocí sít atd. Výsledky celého testu jsou váha dospělců a počet juvenilů na dospělé. Následně je vyhodnocena EC_{50} pro danou testovanou látku. Kontrolní varianta (bez testované látky) musí mít cca 30 juvenilů/dospělce; koeficient variance pro reprodukci <30% a mortalita dospělců po 4 týdnech by neměla být větší než 10%. Jako referenční látka je doporučován carbendazim, který má mít statisticky významný efekt v koncentraci 1-5 mg/kg (250-500g/ha).^{35, 60}

Testovací organismus

Testovací organismus je popsán v kapitole 6.2.2.1.

7. SROVNÁNÍ TESTŮ OECD

Ekotoxikologické testy slouží k hodnocení vlivu škodlivých látek na životní prostředí. Použití daného testu závisí na typu vzorku a účinku, který je u daného vzorku vhodné sledovat. Jednotlivé testy se od sebe liší různými parametry. Mezi tyto parametry patří typ toxicity, délka testu, uspořádání testu, testovací organismus, použitelnost a atd..

V této kapitole se snažím testy toxicity zhodnotit podle použitelnosti. Testy plní svou nezastupitelnou roli v ekotoxikologické analýze mnoha typů životního prostředí. Odhalují toxické průmyslové chemikálie, ale i jedovaté látky přírodního původu, například metabolity rostlin. Testy toxicity mají obrovský význam při klíčovém hodnocení nově vyvinutých a do praxe primárně zaváděných chemických látek a různých přípravků, včetně pesticidů. Dále pomáhají při klasifikaci odpadů určených ke skladování. Veliký význam však vykonávají rovněž při hledání a usvědčování původců havárií na kontaminovaných vodních a suchých biotopech, dále ve splaškových vodách, pevných odpadech. Některé testy pomáhají při rozpoznání biotoxinů ve vodách s pomnoženými cyanobakteriemi.⁶²

Své využití našli pro prověřování toxicity průmyslových vod, odpadních, povrchových a podzemních vod, sedimentů, kontaminovaných půd, pevných odpadů a filtrátů z půdy, skládek odpadů, chemikálií, rostlinných extraktů. Biotesty mohou být významné při mnoha studiích a jsou používány po celém světě v mnoha laboratořích.⁶²

Odpadové hospodářství - vodné výluhy odpadů

Testy, které lze použít pro stanovení ekotoxicity ve vodném odpadu, jsou uvedeny v tabulce 22.

Tabulka 22: Testy pro vodné výluhy odpadů.

Číslo testu	Název testu
OECD 201/2006	Test inhibice růstu na řase a sinici
OECD 202/2004	Test akutní toxicity na perloočkách
OECD 203/1992	Test akutní toxicity na rybách
OECD 204/1984	Prolongovaný test toxicity na rybách
OECD 208/2006	Testy semichronické toxicity se semeny
OECD 211/1998	Test reprodukce na <i>Daphnia magna</i>
OECD 210/1998	Embryolarvální test na rybách
OECD 212/1998	Embryonální test toxicity na rybách
OECD 215/2000	Růstový test na rybách
OECD 221/2006	Růstový inhibiční test okřehku menšího
OECD 220/2004	Test reprodukce na roupici

Odpadové hospodářství - tuhé odpady

Pro tyto druhy odpadů se používají kontaktní testy. Mezi tyto testy patří testy uvedené v tabulce 23.

Tabulka 23: Testy pro tuhé odpady.

Číslo testu	Název testu
OECD 207/1984	Test akutní toxicity na žížale
OECD 220/2004	Test reprodukce na roupici
OECD 214/1998	Kontaktní test akutní toxicity na včelách
OECD 205/1984	Test akutní orální toxicity na ptácích
OECD 222/2004	Test reprodukce u žížal

Vodní hospodářství - odpadní, povrchové, podzemní a splaškové vody

Do této skupiny patří testy uvedené v tabulce 24.

Tabulka 24: Testy pro odpadní, povrchové, podzemní a splaškové vody.

Číslo testu	Název testu
OECD 201/2006	Test inhibice růstu na řase a sinici
OECD 202/2004	Test akutní toxicity na perloočkách
OECD 203/1992	Test akutní toxicity na rybách
OECD 204/1984	Prolongovaný test toxicity na rybách
OECD 208/2006	Testy semichronické toxicity se semeny
OECD 211/1998	Test reprodukce na <i>Daphnia magna</i>
OECD 210/1998	Embryolarvální test na rybách
OECD 212/1998	Embryonální test toxicity na rybách
OECD 215/2000	Růstový test na rybách
OECD 221/2006	Růstový inhibiční test okřehku menšího
OECD 220/2004	Test reprodukce na roupici
OECD 218/2004	Sedlinový test na larvách pakomáru
OECD 219/2000	
OECD 209/1984	Akutní test zpomalení respirace na aktivním kalu

Zemědělství – pesticidy, půda, rostliny

Pro oblast zemědělství jsou testy shrnuty v tabulce 25.

Tabulka 25: Testy pro oblast zemědělství.

Číslo testu	Název testu
OECD 205/1984	Test akutní orální toxicity na ptácích
OECD 206/1984	Test chronické toxicity reprodukce na ptácích
OECD 213/1998	Orální test akutní toxicity na včele
OECD 214/1998	Kontaktní test akutní toxicity na včelách
OECD 216/2000	Dusíkový transformační test na půdních mikroorganismech
OECD 207/1984	Test akutní toxicity na žížale
OECD 220/2004	Test reprodukce na roupici
OECD 222/2004	Test reprodukce u žížal
OECD 217/2000	Uhlíkový transformační test na půdních mikroorganismech

Nové chemické látky

Nově zaváděné chemikálie se testují na všech dostupných testech organizace OECD.

8. ZÁVĚR

Cílem předkládané bakalářské práce bylo teoretické zhodnocení a možnosti využití testů mezinárodní organizace OECD pro stanovení ekotoxicity odpadů.

Organizace OECD je mezinárodní organizací se sídlem v Paříži a její působení se prolíná do několika oborů např. ekonomika, politika, průmysl, životní prostředí atd. Česká republika se stala členem v roce 1995 a od tohoto roku se snaží předpisy a směrnice této organizace začlenit do právního systému České republiky. Jako jeden z členů musí splnit závazky, ke kterým se při vstupu zavázala. Mezi hlavní úkoly patří rozvoj třídění odpadů, zavádění maloodpadových a bezodpadových technologií, omezení vzniku odpadů se zvláštním důrazem na nebezpečné odpady. Nebezpečné vlastnosti odpadů popisuje zákon o odpadech. K těmto vlastnostem patří i ekotoxicita. Stanovuje se pomocí biotestů. Podstatou těchto testů je porovnání účinků testovaného vzorku na živý organismus. Biotesty umožňují rychlé a komplexní zhodnocení nebezpečnosti odpadu.

V legislativě České republiky se pro stanovení ekotoxicity odpadů používají čtyři testy. Jejich metodika vychází ze směrnic OECD. Mezi tyto testy patří: Akutní test toxicity na rybách (OECD 203/1992, OECD 204/1984), Imobilizační případně reprodukční test na perloočkách (OECD 202/1984), Růstově inhibiční test na řasách (OECD 201/1984), Testy na vyšších cévnatých rostlinách – test klíčivosti a růstu kořenů hořčice (OECD 208/1984). Uvedené testy se provádějí ve vodném výluhu. Protože ne všechny toxické látky jsou rozpustné ve vodě, zavádějí se tzv. kontaktní testy. Test je prováděn přímo v tuhém odpadu. Jsou to testy: Test akutní toxicity na žížale OECD 207/1984 a Test reprodukce na rouspici OECD 220/2004

V současnosti se zavádějí alternativní testy toxicity – mikrobiotesty. Mají několik výhod např. ekonomické aspekty, snížení časové náročnosti na přípravu testu a pěstování testovaného organismu atd. Alternativní testy mohou vycházet z principů organizace OECD. Testy, které lze využít pro stanovení ekotoxicity odpadů patří: Algaltoxit FTM, Daphtokit FTM velký, pulec a ProtoxkitTM.

V práci jsem charakterizovala jednotlivé testy, jak jsou uvedeny ve směrnici organizace. Na závěr jsem testy rozdělila podle jejich možné oblasti použití. Testy jsem rozdělila na testy pro vodné výluhy odpadů a pevné odpady, použití ve vodním hospodářství pro testování.

9. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

1. *Organisation for Economic Co-operation and Development* [online]. Paříž, 2000, [cit. 17.4.2007]. Dostupné z: http://www.oecd.org/pages/0,3417,en_36734052_36761863_1_1_1_1_1,00.html<
2. *Organizace pro ekonomickou spolupráci a rozvoj (OECD)*: [online]. Praha, Ministerstvo životního prostředí, 1999, poslední aktualizace 20.3. 2007 [cit. 17.4.2007]. Dostupné z: <<http://www.env.cz/AIS/web-pub.nfs/MZPEAFHG8O7W>>
3. *OECD – všeobecná informace*: [online]. Praha, Ministerstvo zahraničních věcí České republiky, 2005 [cit. 12.4.2007]. Dostupné z: <http://www.mzv.cz/www/default.asp?id=36605&ido=1863&idj=1&amb=120&ParentIDO=1863>
4. *Organizace pro ekonomickou spolupráci a rozvoj (OECD)*: [online]. Wikipedie, otevřená encyklopedie: poslední revize 2007, [cit. 24.4.2007]. Dostupné z: <<http://wikipedia.org/wiki/OECD>>
5. *OECD Zpráva o politice, stavu a vývoji životního prostředí Česká republika*: [online]. Praha, Ministerstvo zahraničních věcí České republiky, 2005 [cit. 12.4.2007]. Dostupné z: www.mzv.cz/oecd.paris/
6. Kizlink, J.: *Nakládání s odpady*. 1. vyd. Brno: Fakulta chemická VUT Brno, 2007. 284 s: ISBN 978-80-214-3348-9
7. *Zákon o odpadech*: [online]. Česká inspekce životního prostředí 1999, poslední aktualizace 9.5.2007, [cit.15.5.2007] Dostupné z: [http://www.cizp.cz/\(bk2gx145iudf3t45adga1q55\)/files/=1300/z%c3%a1k+185_2001+Sb.rtf](http://www.cizp.cz/(bk2gx145iudf3t45adga1q55)/files/=1300/z%c3%a1k+185_2001+Sb.rtf)
8. Smolík, D., Havelka, M.: *Ekologické aspekty rozhodování podniků a základy ekologického managementu*. 1.vyd. Ostrava: Vysoká škola báňská Ostrava – Technická univerzita, 1994. 93 s. ISBN 80-7078-374-5
9. Filip, J., a kol.: *Odpadové hospodářství*. 1. vyd. Brno: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita, 2002. 118 s. ISBN 80-7157-608-5
10. Kolář, L., Kužel, S.: *Odpadové hospodářství*. 1. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 2000. 248 s. ISBN
11. Altman, V.: *Odpadové hospodářství*. 1. vyd. Ostrava: Vysoká škola báňská Ostrava – Technická univerzita, 89 s. ISBN

12. Janků, J.: *Analytika odpadů*. 3. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická Praha, 2002. [online]. [cit. 27.5.2007]. Dostupné z: <http://www.vscht.cz/uchop/udalosti/skripta/analodp/ANALODPADU.doc>
13. *Návody pro laboratorní cvičení*. Ústav chemie prostředí, VŠCHT v Praze Životní prostředí. Praha, 2002. [online]. [cit. 2007-05-27]. Dostupné z: <http://www.vscht.cz/uchop/udalosti/skripta/ZOZP/skriptaZOP.doc>
14. Rusek, V.: *Základy toxikologie a úvod do problematiky hygieny a bezpečnosti práce v chemické laboratoři*. Pardubice, 2001. [online]. [cit. 27.5.2007]. Dostupné z: <http://webak.upce.cz/~uozp/skripta/uozp-skripta-tox-rusek.pdf>
15. Čabala, R., *Ekotoxikologie. Hranice mezi ekologií a toxikologií?*: Univerzita Karlova v Praze, 2007. [online]. [cit. 20.8.2007]. Dostupné z: www.natur.cuni.cz/analchem/nesmerak/20070806NH1.pdf
16. EMPLA s.r.o: *Ekotoxikologické testování materiálů a chemických substancí*. [online]. [cit. 17.5.2007-]. Dostupné z: <http://www.empla.cz/ekotoxikologicke-bakterialni-testy/>
17. Matějů, V., Vosáhlová, S., Kydly, R.: *Stanovení ekotoxicity*. Waste – portál, [online]. [cit. 20.8.2007]. Dostupné z: http://www.waste.cz/waste.php?clanek=04-05/Stanoveni_ekotoxicity.htm
18. Recetox MU Brno [online]. Poslední revize 2006 [cit. 17.5.2007]. Dostupné z: <http://recetox.muni.cz/index.php?s=ekotoxikologie>
19. Zkušební akreditovaná laboratoř: *Testování toxicity pro včely*. [online]. Poslední revize 2006 [cit. 27.6.2007]. Dostupné z: http://recetox.muni.cz/sources/prednasky/marsalek/EB_prezentace/Testy_na_vcelach.pdf
20. Kočí, V.: *Význam testů toxicity pro hodnocení vlivů látek na životní prostředí*. Chemické listy, 2006, č. 100, s. 882 – 888. ISSN 0009 - 2770.
21. Kafka, Z., Punčochářová, J.: *Biotesty a jejich aplikace v analytice životního prostředí*. Chemické listy, 1999, č. 93, s. 604 – 606. ISSN 0009 – 2770.
22. Rulík, M.: *Hydrobiologie* [online]. Poslední revize 2007 [cit. 20.6.2007]. Dostupné z: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/ebook.html?p=B023
23. Tocoen s. r. o. [online]. Poslední revize 10. 2. 2005 [cit. 17.5.2007]. Dostupné z: http://www.tocoen.cz/sluzby_toxicita.htm
24. Tocoen s. r. o. [online]. Poslední revize 10. 2. 2005 [cit. 17.5.2007]. Dostupné z: <http://www.tocoen.cz/toxkits/AlgaltokitFstp.pdf>
25. Tocoen s. r. o. [online]. Poslední revize 10. 2. 2005 [cit. 17.5.2007]. Dostupné z: <http://www.tocoen.cz/toxkits/DaphtokitFmagnastp.pdf>

26. Tocoen s. r. o. [online]. Poslední revise 10. 2. 2005 [cit. 17.5.2007]. Dostupné z <http://www.tocoen.cz/toxkits/DaphtoxkitFpulexstp.pdf>
27. Tocoen s. r. o. [online]. Poslední revise 10. 2. 2005 [cit. 17.5.2007]. Dostupné z <http://www.tocoen.cz/toxkits/ProtoxkitFstp.pdf>
28. Máchová, J., Svobodová, Z., Vykusová, B.: *Ekotoxikologické hodnocení výluhů tuhých průmyslových odpadů*. Edice metodik č. 45, Vodňany 1994, Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický, s.p. ISBN 80 – 85887 – 00 – 2
29. Kočí, V., Rakovický, T., Švagr, A.: *Testy akutní a semichronické toxicity*. [online]. Poslední revise 2001 [cit. 20.6.2007]. Dostupné z: <http://www.vscht.cz/uchop/ekotoxikologie/dokumenty/Obecna.htm>
30. Křenek, L.: *Metodický pokyn odboru odpadů ke stanovení ekotoxicity odpadů*. Únor 2007, Praha, Ministerstvo životního prostředí - odbor odpadů. [online]. [cit. 12.4.2007] Dostupné z: [http://www.env.cz/_C1256D3D006B1934.nsf/\\$pid/MZPJMFL9Y99C/\\$FILE/MP ke stanoveni ekotoxicity odpadu.pdf](http://www.env.cz/_C1256D3D006B1934.nsf/$pid/MZPJMFL9Y99C/$FILE/MP_ke_stanoveni_ekotoxicity_odpadu.pdf)
31. Maršálek, B.: *Mikrobiotesty – druhá generace ekotoxikologických biotestů* [online]. [cit. 12.6.2007]. Dostupné z: http://www.recetox.muni.cz/sources/prednasky/marsalek/EB_dalsi_mater/Prehled_mikrobiotestu.pdf
32. Maršálek, B.: *Alternativní testy toxicity* [online]. [cit. 23.6.2007]. Dostupné z: http://recetox.muni.cz/sources/prednasky/marsalek/EB_dalsi_mater/Prehled_mikrobiotestu.pdf
33. Hofman, J.: *Půdní ekotoxikologie* [online]. [cit. 28.5.2007]. Dostupné z: http://recetox.muni.cz/sources/prednasky/hofman/pudni_ekotox01.pdf
34. Hofman, J.: *Ekotoxikologie půdních mikroorganismů* [online]. [cit. 28.5.2007]. Dostupné z: http://recetox.muni.cz/sources/prednasky/hofman/pudni_ekotox02.pdf
35. Hofman, J.: *Ekotoxikologie půdních bezobratlých* [online]. [cit. 28.5.2007]. Dostupné z: http://recetox.muni.cz/sources/prednasky/hofman/pudni_ekotox03.pdf
36. Maršálek, B.: *Testy toxicity s rybami*. [online]. [cit. 28.5.2007]. Dostupné z: http://recetox.muni.cz/sources/prednasky/marsalek/EB_prezentace/Testy_ekotoxicity_s_rybami.pdf
37. Recetox MU Brno: *Ekotoxikologické testy s ptáky a savci*. [online]. Poslední revize 2006 [cit. 17.5.2007]. Dostupné z: http://recetox.muni.cz/sources/prednasky/marsalek/EB_prezentace/EB_s_ptaky_a_savci.pdf

38. Maršálek, B., Maršálková, E.: *Srovnání metod pro vyluhování solifikovaných odpadů*. [online]. Poslední revize 2006 [cit. 17.5.2007]. Dostupné z: http://recetox.muni.cz/sources/prednasky/marsalek/EB_dalsi_mater/hodnoceni_odpadu.pdf
39. OECD: Test No. 201: *Alga, Growth Inhibition Test*. [online]. Paříž: OECD, 23.3.2006 [cit. 18.7.2007]. 25 s. Dostupné z: <http://puck.sourceoecd.org/vl=9308517/cl=20/nw=1/rpsv/cgibin/fulltextew.pl?prpsv=/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s2/p1.idx>
40. OECD: Test No. 202: *Daphnia sp. Acute Immobilisation Test*. [online]. 13.4.2004 [cit. 18.7.2007]. 12 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s3/p1>
41. OECD: Test No. 203: *Fish, Acute Toxicity Test*. [online]. Paříž: OECD, 17.7.1992 [cit. 18.7.2007]. 9 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s4/p1>
42. OECD: Test No. 204: *Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-Day Study*. [online]. Paříž: OECD, 4.4.1984 [cit. 18.7.2007]. 9 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s5/p1>
43. OECD: Test No. 205: *Avian Dietary Toxicity Test*. [online]. Paříž: OECD, 4.4. 1984 [cit. 18.7.2007]. 10 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s6/p1>
44. OECD: Test No. 206: *Avian Reproduction Test*. [online]. Paříž: OECD, 14.4.1984 [cit. 18.7.2007]. 12 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s7/p1>
45. OECD: Test No. 207: *Earthworm, Acute Toxicity Tests*. [online]. Paříž: OECD, 4.4.1984 [cit. 18.7.2007]. 7 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s8/p1>
46. OECD: Test No. 208: *Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test*. [online]. Paříž: OECD, [cit. 18.7.2007]. 19.6.2006 21 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s9/p1>

47. OECD: Test No. 209: *Activated Sludge, Respiration Inhibition Test*. [online]. Paříž: OECD, [cit. 18.7.2007]. 12 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s10/p1>
48. OECD: Test No. 210: *Fish, Early-Life Stage Toxicity Test*. [online]. Paříž: OECD, 17.7.1992 [cit. 18.7.2007]. 18 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s11/p1>
49. OECD: Test No. 211: *Daphnia magna Reproduction Test*. [online]. Paříž: OECD, 21.9.1998 [cit. 18.7.2007]. 21 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s12/p1>
- OECD: Test No. 212: *Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-Fry Stages*. [online]. Paříž: OECD, 21.9.1998 [cit. 18.7.2007]. 20 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s13/p1>
50. OECD: Test No. 213: *Honeybees, Acute Oral Toxicity Test*. [online]. Paříž: OECD, 21.9.1998 [cit. 18.7.2007]. 8 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s14/p1>
51. OECD: Test No. 214: *Honeybees, Acute Contact Toxicity Test*. [online]. Paříž: OECD, 21.9.1998 [cit. 18.7.2007]. 7 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s15/p1>
52. OECD: Test No. 215: *Fish, Juvenile Growth Test*. [online]. Paříž: OECD, 21.1.2000 [cit. 18.7.2007]. 16 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s16/p1>
53. OECD: Test No. 216: *Soil Microorganisms: Nitrogen Transformation Test*. [online]. Paříž: OECD, 21.1.2000 [cit. 18.7.2007]. 10 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s17/p1>
54. OECD: Test No. 217: *Soil Microorganisms: Carbon Transformation Test*. Paříž: OECD, [online]. 21.1.2000 [cit. 18.7.2007]. 10 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s18/p1>

55. OECD: Test No. 218: *Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Sediment*. Paříž: OECD, [online]. 13.4.2004 [cit. 18.7.2007]. 21 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s19/p1>
56. OECD: Test No. 219: *Sediment-Water Chironomid Toxicity Using Spiked Water*. Paříž: OECD, [online]. 13.4.2004 [cit. 18.7.2007]. 21 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s20/p1>
57. OECD: Test No. 220: *Enchytraeid Reproduction Test*. Paříž: OECD, [online]. 13.4.220 [cit. 18.7.2007]. 22 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s21/p1>
58. OECD: Test No. 221: *Lemna sp. Growth Inhibition Test*. [online]. 23.3.2006 [cit. 18.7.2007]. 22 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s22/p1>
59. OECD: Test No. 222: *Earthworm Reproduction Test (Eisenia fetida/Eisenia andrei)*. [online]. 13.4.2004 [cit. 18.7.2007]. 18 s. Dostupné z: <http://lysander.sourceoecd.org/vl=5479389/cl=16/nw=1/rpsv/ij/oecdjournals/1607310x/v1n2/s23/p1>
60. Laboratoř ekotoxikologie a LCA, Ústav chemie prostředí, VŠCHT v Praze: *Test toxicity při semichronické expozici vůči okřehku menšímu (Lemna minor L)*. [online]. [cit. 7.7.2007]. Dostupné z: http://www.vscht.cz/uchop/ekotoxikologie/studijni_materialy/EkotoxLabo/4_okrehek.pdf
61. Microbiotests, Inc., Venecoweg 19, 9810 Nazareth, Belgium [online]. 2001, poslední revise 3. 3. 2006, [cit. 18.7.2007]. Dostupné z: <<http://www.microbiotests.be/>>.
62. NATURA 2000 – soustava chráněných územích evropského významu [online], 2006, [cit. 18.7.2007]. Dostupné z: <http://www.nature.cz/natura2000-design3/sub-fotogalerie.php>.

10. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

CEMT	Evropská konference ministrů dopravy
ČOV	Čistička odpadních vod
DC	Rozvojové centrum
EC_x	Efektivní koncentrace
IC₅₀	Letální koncentrace
IEA	Mezinárodní energetická agentura
ISO	International Organization for Standardization
LC₅₀	Inhibiční koncentrace
LD₅₀	Letální dávka
NEA	Agentura pro atomovou energii
OC₀₋₁₀₀	orientační koncentrace
OECD	Organizace pro mezinárodní spolupráci a rozvoj
OEEC	Organizace pro ekonomickou spolupráci
PAU	Vyšší polycyklické aromatické uhlovodíky
PCB	Polychlorované bifenyly
PCDD	Polychlorované dibenzodioxiny
PCDF	Polychlorované dibenzofurany
pH	Záporná hodnota dekadického logaritmu číselné hodnoty aktivity vodíkových iontů
TU	Toxikologická jednotka
WHC	Maximální vodní kapacita